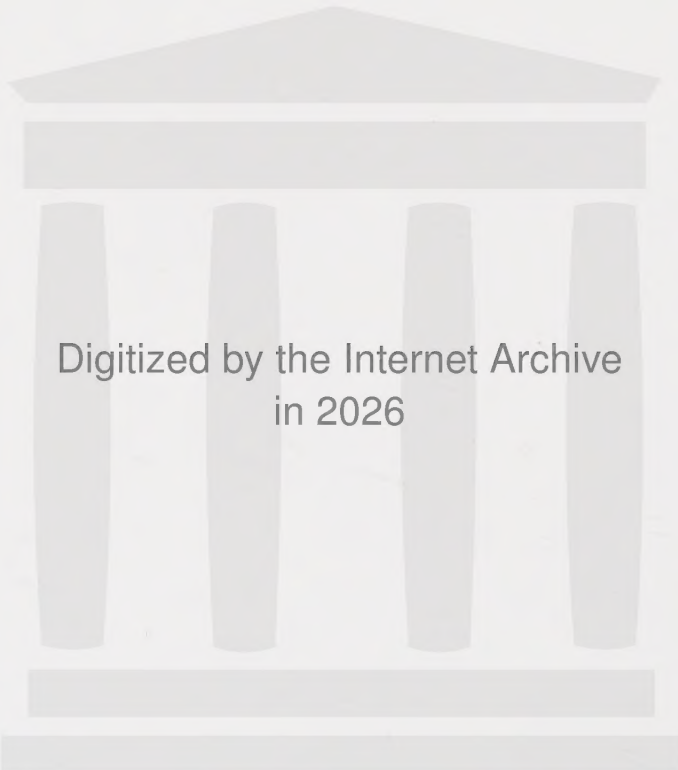


EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR IMMUNOLOGIE UND
CHIRURGIE DER ALLOGENEN MILZTRANSPLANTATION BEIM
HUND MIT ANSCHLIESSENDER RÜCKTRANSPLANTATION DER
MILZ AUF DAS URSPRÜNGLICHE SPENDERTIER BEI GLEICH-
ZEITIGER ALLOGENER NIERENTRANSPLANTATION

von
Edmund Peter Weiß

1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548325_0023

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
der Medizinischen Fakultät der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. W. Brendel
vorgelegt über das

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und
Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. Dr. h.c. A. Mayr
Abteilung für Immunbiologie
Abteilungsleiter: Prof. Dr. H.-G. Buschmann

Experimentelle Untersuchungen zur Immunologie und Chirurgie der
allogenen Milztransplantation beim Hund mit anschließender
Rücktransplantation der Milz auf das ursprüngliche Spendertier
bei gleichzeitiger allogener Nierentransplantation

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Edmund Peter Weiß
aus
München

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben
Referent: Prof. Dr. H.G. Buschmann
Korreferent: Prof. Dr. A. Schmid



Tag der Promotion: 24. Juli 1981

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Experimentelle Untersuchungen zur Immunologie und Chirurgie der allogenen Milztransplantation beim Hund mit anschließender Rücktransplantation der Milz auf das ursprüngliche Spendertier bei gleichzeitiger allogener Nierentransplantation.

INHALTSVERZEICHNIS

A.	Einleitung	8
B.	Material und Methoden	12
I.	Versuchsaufbau	12
a.	Tiermaterial, Futter und Haltung	12
b.	Ablauf des Versuches	12
II.	Experimentelle Durchführung	13
a.	Immunisierung der Tiere	13
b.	Narkose der Versuchstiere	15
c.	Intra-, inter- und postoperative Versorgung	17
d.	Operatives Vorgehen	18
e.	Nierenfunktionskontrolle	22
III.	Immunologische Tests	23
a.	Hämolytische Plaques Antikörper bildender Zellen	23
b.	Nachweis hämolysierender Antikörper	23
c.	Nachweis hämagglutinierender Antikörper	24
d.	DLA—Antigentestung	25
IV.	Pathologisch-anatomische Untersuchungen	25
C.	Ergebnisse	26
I.	Versuchsablauf	26
a.	Überlebenszeit	26
b.	Nierenfunktionskontrolle	27
c.	Pathologisch-anatomische Untersuchungen	28
II.	Immunbiologische Vorgänge	31
a.	Plaque forming assay	31

b.	Nachweis hämolysierender Antikörper	32
c.	Nachweis hämagglutinierender Antikörper	46
d.	DLA-Antigentestung	60
III.	Operative Komplikationen	60
IV.	Narkosekomplikationen	61
D.	Diskussion	63
I.	Operationen und Narkose	63
II.	Versuchsanordnung	64
a.	Anti-idiotypische Antikörper	64
b.	Suppressor- Zell- Aktivität	68
c.	Überlebenszeit von allogenen Nierentransplantaten	70
d.	Funktionskontrolle der transplantierten Organe	71
e.	Pathologisch- anatomische Untersuchungen	72
III.	Immunbiologische Vorgänge	74
a.	Plaquebildende Zellen	74
b.	Hämolysierende Antikörper	75
c.	Hämagglutinierende Antikörper	76
d.	DLA- Übertragung	76
IV.	Folgerungen aus immunbiologischen Vorgängen	77
E.	Zusammenfassung	79
F.	Literaturverzeichnis	81

Abkürzungen

A.	=	Arterie
Ag	=	Antigen
Ak	=	Antikörper
DLA	=	Dog Leucozyte Antigen
E.H.	=	Empfängerhund, der Hund, welcher dem eigentlichen Spenderhund für einige Tage seine Milz entleiht, sie dann zurückerhält und gleichzeitig das allogene Nierentransplantat des Spenderhundes erhält.
g	=	Gramm
HRBC	=	Horse Red Blood Cells (Pferde-Erythrozyten)
i.m.	=	intramuskulär
i.nod.	=	intranodulär
i.v.	=	intravenös
kg	=	Kilogramm
KG	=	Körpergewicht
mg	=	Milligramm
min.	=	Minuten
ml	=	Milliliter
mm	=	Millimeter
%	=	Prozent
s.c.	=	subcutan
S.H.	=	Spenderhund, der Hund, welcher vom Empfängerhund die Milz für einige Tage erhält, die dem Empfängerhund dann wieder implantiert wird und der als Nierenspender für den Empfängerhund dient.
SRBC	=	Sheep Red Blood Cells (Schaf-Erythrozyten)
U	=	Umdrehung
V.	=	Vene

A. Einleitung

Organ- und Gewebetransplantationen sind seit einigen Jahren fester Bestandteil der Chirurgie. Hier gilt der Erneuerung irreversibel geschädigter, lebensnotwendiger Teile des Organismus die Aufmerksamkeit der medizinischen Forschung. In klinischer Anwendung befinden sich derzeit Transplantationen von Nieren, Augenhornhaut und von Gehörknöchelchen. Noch im Versuchsstadium befinden sich Verpflanzungen von Herz, Leber und Pankreas sowie von Knochen, Haut und Herzklappen.

Die großen technischen Verbesserungen und Vervollkommnungen in der Transplantationschirurgie können nicht darüber hinwegtäuschen, daß es bis heute nicht gelungen ist, Abstoßungsreaktionen zu vermeiden oder zu unterdrücken, ohne dabei den gesamten Organismus massiv in Mitleidenschaft zu ziehen. So ist es jetzt nicht mehr so sehr die operative Technik, welche dem Erfolg vieler in klinischer Anwendung stehender Organtransplantationen Grenzen setzt, sondern es ist die Auseinandersetzung des Immunsystems des Wirtsorganismus mit dem als fremd empfundenen Gast, dem Transplantat. Die Immuntherapie mit Cortison, Azathioprin, ALG sowie radiologischen Methoden findet Anwendung bei der unspezifischen Unterdrückung von Abstoßungskrisen. All diese Methoden, wie auch die Anwendung von Cyclophosphamid zur Immunsuppression (7) schädigen das körpereigene, lebensnotwendige Immunsystem des Transplantatempfängers massiv. Eine erhöhte Infektionsanfälligkeit wird beobachtet wie auch eine Hemmung der adrenocorticotropen Funktion der Hypophyse mit Nebennierenrindenatrophie, Osteoporose und Wachstumsstörungen bei Kindern speziell unter der Anwendung von Cortison, um nur einiges zu nennen (10).

Ziel immunologischer Forschung ist es nun derzeit, ein spezifisches Prinzip zur Unterdrückung der Immunantwort zu finden, das keine unerwünschten Nebenwirkungen auf andere lebenswichtige Funktionen des Transplantatempfängers ausübt und zunächst zumindest eine zeitliche Verzögerung von Transplantatreaktionen bewirkt. Optimal wäre hierzu die Erzeugung einer „specific unresponsiveness“ oder einer Immuntoleranz des Transplantatempfängers dem histoinkompatiblen Organ gegenüber. Dies würde eine Abstoßung des Transplantates verhindern, ohne gleichzeitig einen massiven Immundefekt des Empfängers zu bewirken.

Zur Erreichung einer spezifischen Immunsuppression werden heute zwei verschiedene Methoden diskutiert, einmal das Prinzip der Produktion von anti-idiotypischen Antikörpern mit dem Ziele des Nichterkennens von Antigen (= Transplantat), zum anderen die Erzeugung einer Toleranz gegenüber dem Antigen (= Transplantat) mittels der Aktivierung von Suppressorzellen zur Unterdrückung der Immunantwort.

1. Anti- idiotypische Antikörper

B-Lymphozyten, die durch Antigeneinwirkung zur Antikörperproduktion angeregt werden können, tragen Antigenrezeptoren an ihren Oberflächen. Diese Rezeptoren sind ihrer Natur nach Immunglobuline und im wesentlichen Kopien der danach gebildeten Antikörper (41). Rezeptoren und Antikörper, die spezifisch für dasselbe Antigen sind, haben dieselbe Struktur in ihrer Bindungsstelle. Daraus folgt, daß anti- idiotypische Antikörper die spezifisch gegen einen gegebenen Antikörper gerichtet sind, auch mit dem Rezeptor- Immunglobulin des Zellverbandes reagieren können, welches in der Lage ist, diese Antikörper zu produzieren (41). Genügend vorhandene anti-idiotypische Antikörper würden somit die Bindungsstellen für das Antigen (= Transplantat) besetzen, so daß es für den Rezeptor unmöglich wird, das Antigen zu erkennen (siehe Abb. 1 in Anlehnung an Köhler 41).

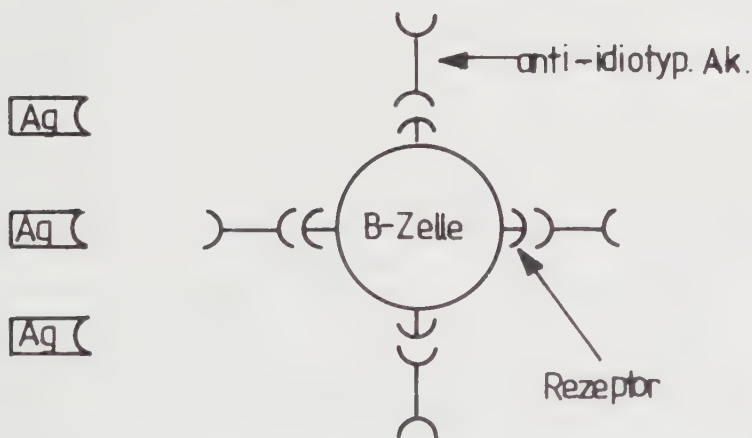


Abb. 1 "specific unresponsiveness" gegenüber dem Antigen. Anti-idiotypische Antikörper (Y-C) besetzen die Rezeptoren der B-Zelle für das Antigen, so daß dieses nicht mehr als solches erkannt wird und die Antikörperproduktion unterbleibt.

Bislang konnte das Vorhandensein von Immunglobulinen nur auf der Oberfläche von B-Zellen nachgewiesen werden (68). Auf T-Zellen sind sie nicht nachweisbar. Nach **Binz** und **Wigzell** (3) besteht die Möglichkeit der Erkennung von T-Zell-Rezeptoren in der Anwendung von anti-idiotypischen Antikörpern, die gegen Produkte von B-Zellen gerichtet sind. Danach benutzen B- und T-Zellen denselben variablen Gensatz zur Bildung ihrer Antigen-Bindungsstellen an ihren Rezeptoren. T- und B-Lymphozyten, die gegen dieselben Antigendeterminanten reagieren, benutzen Antigen bindende Rezeptoren (oder produzieren Antikörper im Falle von B-Zellen) mit zum Teil identischen idiotypischen Determinanten

(72). So ist es möglich, B- und/oder T-Zell-Rezeptoren als Immunogen zu verwenden, um anti-idiotypische Immunreaktionen gegen beide Gruppen von Lymphozyten mit entsprechenden idiotypischen Rezeptoren auszulösen (72). Durch die Applikation von T-Zell-Idiotypen stellten **Binz** und **Wigzell** eine Transplantattoleranz fest, seither wird die Schutzwirkung der Gegsensensibilisierung bei Transplantation als Ausdruck des Prinzips der anti-idiotypischen Immunsuppression diskutiert.

2. Suppressorzellen

Gershon (34) fand heraus, daß immune B-Zellen und immune T-Zellen gut miteinander kooperieren können; wenn aber nicht-immune T-Zellen zu der Reaktion gegeben wurden, wurde die spezifische Immunantwort nahezu total unterdrückt. Je höher der Aktivitätsgrad der Immunzellen ist, umso mehr Rückkopplungsprodukte werden produziert. Diese Produkte werden von Regulator-T-Zellen erkannt welche die Immunantwort entweder supprimieren oder steigern können. Ist der Aktivitätsgrad des Regulators hoch, so ist es wahrscheinlich, daß die Regulatorzelle als Suppressor wirkt. Die Arbeiten von **Gershon** (30) zeigen, daß unter Benutzung von SRBC als Antigen bei Interaktionen zwischen immunen B T-Zellen und nicht-immunen T-Zellen die spezifische Immunantwort gegen dieses Antigen supprimiert werden kann. Seither wird die Erzeugung von Immunzellen die spezifisch gegen ein Antigen gerichtet sind in ihrer Wirkung auf Nicht-Immun-Zellen zur Erzeugung einer Transplantattoleranz diskutiert.

Die beiden aufgezeigten Theorien beschreiben Feedback-Mechanismen von Immunzellen und die erwähnten Versuche wurden ausschließlich an ingezuchteten Nagern durchgeführt (4, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 53). In deren streng definierten Immunsystemen wurden zur Untersuchung der Induktion von Suppressor-T-Lymphozyten und der Wirksamkeit von anti-idiotypischen Antikörpern klassische immunologische in-vitro-assays verwendet. Im Hinblick auf die mögliche klinische Bedeutung dieser Thematik für die Organtransplantation beim Menschen wurde ein in vivo Versuchsmodell am nicht ingezuchteten großen Labortier (Hund) entwickelt, damit solche immunologische Feedback-Mechanismen im Rahmen einer Immunantwort gegen allogene Transplantationsantigene untersucht werden können.

In welcher Weise die Milz als lymphatisches Organ für die Protektion oder aber Rejektion von anderen transplantierten Organen verantwortlich zeichnet, war Gegenstand dieser Untersuchungen. Früher wurden Transplantationen der Milz bereits durchgeführt zur experimentellen Therapie der Hämophilie (51), zur Erforschung von Abstoßungsreaktionen des Organes (71); auch sind die Immunantworten nach Splenektomie und die Auswirkung auf Tumoren erforscht worden (25, 52), um hier nur einiges zu nennen.

In Anlehnung an die Untersuchungen von **Gershon** (28, 32) und **Wigzell** (72) und nach eigenen Überlegungen wurde am Versuchstier Hund folgender Versuch durchgeführt:

Die allogene Milztransplantation mit anschließender Rücktransplantation der Milz (nach 2—4 Tagen) auf das ursprüngliche Spendertier bei gleichzeitiger allogener Nierentransplantation.

Die erzielte Situation bestand nun zum einen in der Introduktion von DLA-Antigenen vom S.H. auf den E.H. aufgrund der Nierentransplantation, zum anderen in einem Nebeneinander von immunen T/B-Zellen und nichtimmunen T-Zellen im E.H.. Die Immunzellen sind in der rücktransplantierten Milz verfügbar und spezifisch gegen die DLA-Antigene des S.H. gerichtet. Die Nichtimmunzellen sind verfügbar im restlichen lymphatischen Gewebe des E.H.

Ziel des Experimentes war es, die Immunantwort innerhalb des nicht-immunen lymphatischen Systems gegen die introduzierten DLA-Antigene unter dem Einfluß der rücktransplantierten Milz zu erforschen (Versuch der Induktion von Suppressor-T-Zellaktivität), bzw. der Versuch zur Induktion von autologer bzw. allogener anti-idiotypischer Immunreaktion.

B. Material und Methoden

I. Versuchsaufbau

a. Tiermaterial, Futter und Haltung

Es wurden 29 Versuche der Milz- Hin- und Rücktransplantation durchgeführt. Davon kamen 15 Versuche zur Auswertung, 14 mißlangen insgesamt. Es wurden 58 Versuchshunde sowie 6 Kontrollhunde, alles Mischrasen verwendet. Sie wiesen ein Durchschnittsgewicht von 35 kg auf. Das Alter der Hunde lag zwischen 2 und 9 Jahren. Die jeweiligen Versuchstierpaare entstammten unterschiedlichster Herkunft, so daß eine Inzucht ausgeschlossen werden konnte. Männliche und weibliche Tiere waren gleich häufig.

Vor der Durchführung des Experimentes wurden die Hunde einer dreiwöchigen Quarantäne unterzogen sowie mit Alugan¹ von Ektoparasiten befreit. Bei Einstellung der Hunde wurden diese mit Telmin KH² entwurmt und aktiv gegen Staupe, Hepatitis und Leptospirose³ immunisiert. Die Tiere erhielten eine ausgewogene Ernährung aus Fleisch, Reis und Nudeln, sowie Wasser ad libitum. Einen Tag vor der ersten Operation wurde die Nahrung abgesetzt.

b. Ablauf des Versuches

1. Teil:

Vorab wurde ein *in vivo* Versuchsmodell am nicht ingezüchteten Hund erarbeitet, mit dessen Hilfe es möglich ist, immunologische Feedback-Mechanismen im Rahmen einer Immunantwort gegen allogene Transplantationsantigene zu untersuchen. Eine erfolgreiche Hin- und Rück-Transplantation wurde mittels verschiedener immunologischer Tests kontrolliert. Um Parameter für die später beschriebenen *in vitro* Tests nach erfolgter Milztransplantation zu erhalten, wurden die Tiere mit artfremdem Protein (Pferd- oder Schaferythrozyten) 8 Tage vor der eigentlichen Versuchsdurchführung immunisiert. In regelmäßigen Abständen wurde Vollblut zur Serumgewinnung abgenommen. Die Immunisierung diente hierbei der Erkennung von zellabhängigen und humoralen immunologischen Reaktionen nach Hin- und Rücktransplantation der Milz. Aus diesem Grunde wurden für den Spenderhund und den Empfängerhund verschiedene Antigene (SRBC und HRBC) verwendet.

2. Teil:

8 Tage nach der Erstimmunisierung der beiden Versuchstiere erfolgte eine allogene Milztransplantation vom späteren Empfängerhund (E.H.) auf den intermediären Spenderhund (S.H.); die Gefäße des Milztransplantates wurden hierzu unter Ver-

¹ Alugan®, Hoechst AG Berlin,

² Telmin KH®, Janssen GmbH Düsseldorf

³ Candur SHL®, Behring AG Marburg

wendung einer eigens entwickelten Technik nach linksseitiger Nephrektomie des S.H. heterotop an dessen Nierengefäße anastomosiert. Aus Platzgründen erfolgte zusätzlich die Splenektomie des S.H. sowie zur Zeiteinsparung für die lange dauernde zweite Operation die rechtsseitige Nephrektomie des E.H..

3. Teil:

2, 3 und 4 Tage nach der ersten Operation erfolgte die Rücktransplantation der aktivierten Milz autolog vom S.H. auf den E.H. unter Anastomosierung der Milzgefäße an die linken Nierengefäße nach vorausgegangener linksseitiger Nephrektomie. Zusätzlich wurde die rechte Niere des S.H. in die rechte Fossa iliaca des E.H. heterotop implantiert.

4. Teil:

Nach erfolgreicher zweiter Operation wurden laufend Funktionskontrollen der transplantierten Niere durchgeführt und die Überlebenszeit des Hundes registriert. Zusätzlich erfolgten die immunologischen Tests zum Nachweis der Übertragung antikörperbildender Zellen. Am Ende des Versuches stand die pathologische Untersuchung.

II. Experimentelle Durchführung

a. Immunisierung der Tiere

Um leicht darstellbare, immunologische Parameter für die später beschriebenen in-vitro-Teste zu erhalten, wurde den Versuchstieren Antigen in Form von xenogenen Erythrozyten injiziert, welche aus Na-EDTA-Blut (1:10) von Pferden und Schafen durch dreimaliges Waschen mit phys. NaCl-Lösung jeweils 5 min. lang bei 3000 U/min. gewonnen wurden. Die Erythrozytenkonzentration wurde auf $8,5 \times 10^9$ /ml mittels phys. NaCl-Lösung eingestellt. 8 Tage vor der geplanten Transplantation erfolgte die Erstimmunisierung der beiden Versuchstiere, beim E.H. mit Pferdeerythrozyten (HRBC), beim S.H. mit Schafererythrozyten (SRBC) in folgender Weise: 2ml des jeweiligen Antigens wurden intravenös, 4 Portionen von je 1ml wurden an 4 verschiedenen Stellen subcutan und 1ml des Antigens vermischt mit 1ml Freund'schem Adjuvans⁴ wurden in die Umgegend des Lymphonodus popliteus injiziert. Wiederholt wurde diese aktive Immunisierung noch zweimal im Abstand von zwei Tagen, jedoch ohne die Anwendung von Freund'schem Adjuvans, da in jedem Falle bereits nach der Erstimmunisierung der Lymphonodus popliteus reaktiv vergrößert war.

⁴ Komplettes Freund'sches Adjuvans
Behring Werke AG, Marburg

Während des gesamten Versuches erfolgten in täglichen Abständen Blutabnahmen zur Serumgewinnung. Bis zur in-vitro-Testung zur Feststellung einer Antikörperbildung wurde das Serum bei -20°C eingefroren.

Zusätzlich wurde Heparinblut zur Lymphozytengewinnung für den Nachweis zellulärer Antikörperbildung (plaque-forming-assay) gewonnen.

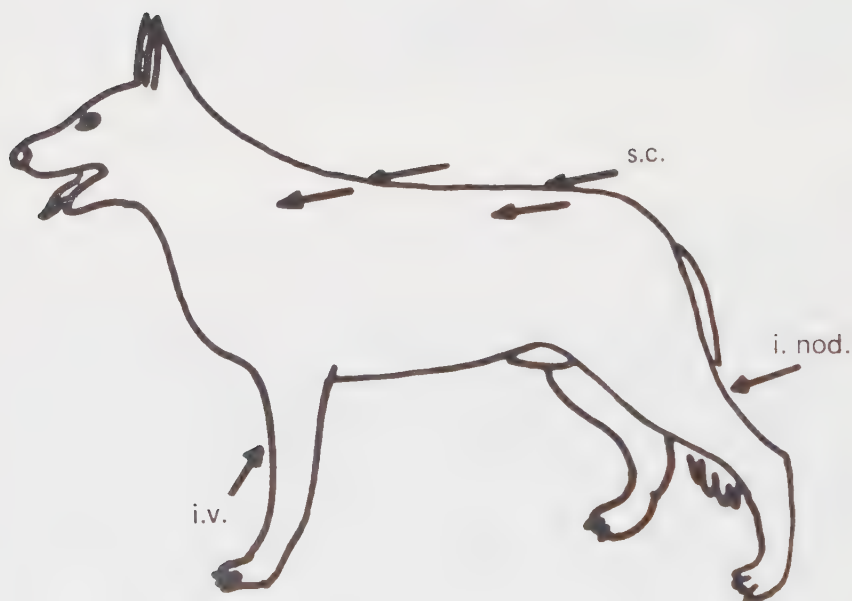


Abb. 2 Immunisierungsstellen bei den Versuchstieren.

1 x intravenös

4 x subcutan

1 x Nähe Ln. popliteus

Antigen = xenogene Erythrozyten (HRBC oder SRBC)

7. präop. Tag	6. präop. Tag	5. präop. Tag	4. präop. Tag	3. präop. Tag	2. präop. Tag	1. präop. Tag	Tag der 1. OP
i.v. 2 ml		i.v. 2 ml		i.v. 2 ml			
s.c. 4 x 1 ml		s.c. 4 x 1 ml		s.c. 4 x 1 ml			
i.nod. 1 x 1 ml + K.F.A.		i.nod. 1 x 2 ml		i.nod. 1 x 2 ml		(1 ml = 8,5 x 10 ⁹ Ery)	

Abb. 3 Immunisierungsschema bei den Versuchshunden, beschrieben sind die Mengen der verabreichten Antigene (HRBC oder SRBC) sowie die Zeitpunkte der Immunisierungen bezogen auf den Tag der ersten Operation.
K.F.A. = Komplettes Freund'sches Adjuvans

b. Narkose der Versuchstiere

Bei den ersten 9 Versuchen wurde für die bis zu 6 1/2 Stunden dauernden Operationen ein mittellang wirkendes Barbiturat zur Erzielung einer operationstüchtigen Narkose verwendet. Intravenös wurde den Tieren eine Menge von 30 mg/kg KG Pentobarbital⁵ injiziert. Die ersten beiden Drittel der Dosis wurden zur Unterdrückung des Exzitationsstadiums zügig verabreicht, der Rest langsam unter Berücksichtigung von Cornealreflex, Zehenreflex, palatomaxillärem Reflex sowie der Rotation des Bulbus bis zum Toleranzstadium 2–3. Anschließend wurden die Hunde für die Operation vorbereitet, also abdominal rasiert und intubiert. Bei Aussetzen der Spontanatmung wurden sie manuell beatmet, später auf dem Operationstisch erfolgte maschinelle Beatmung mittels einer Starlingpumpe. Bei nicht ausreichender Muskelrelaxation wurde bis zu 10 mg Diazepam⁶ intravenös verabreicht. Bedingt durch die lange Dauer der Operation war es notwendig, bis zu dreimal und mehr jeweils 150 mg des Barbiturates im Laufe des Eingriffes nachzudosieren.

Die Aufwachphase der Hunde betrug postoperativ individuell verschieden zwischen 2 und 6 Stunden, der Endotrachealkatheter wurde bei Wiedereinsetzen des palatomaxillären Reflexes entfernt.

Bei den weiteren Versuchen wurde anstelle der Injektionsnarkose eine Inhalationsnarkose mit Prämedikation von 0,5 mg Atropinsulfat⁷ i.m. verwendet. Eingeleitet wurde die Narkose mit der i. v. Injektion von Methohexital⁸ nach Wirkung mit anschließender endotrachealer Intubation des Hundes. Für die Inhalationsnar-

⁵ Nembutal®, C.H. Boehringer u. Sohn, Ingelheim

⁶ Valium®, Hoffmann-LaRoche AG, Grenzach/Baden

⁷ Atropinsulfat®, DrobenA-AM, Berlin

⁸ Brevimytal®, Eli Lilly, Gießen

kose wurde Halothan⁹, das einem 1 : 1 Sauerstoff-Stickoxydul-Gemisch beigelegt war, 4 min. lang in 4%iger Konzentration, verwendet. Danach wurde die Halothan-konzentration auf 1,2 % gesenkt, weitere 10 min. später auf 1 %. Aufgrund der geringen analgetischen und muskelrelaxierenden Wirkung von Halothan erfolgte eine i. v. Gabe von Diazepam² bis zu 20 mg. Die Aufwachphase der Hunde betrug 5–10 min. Die Narkose des S.H. wurde mit Pentobarbital⁵ durchgeführt.

Bei den letzten Versuchen wurde eine im Folgenden beschriebene Kombinations-narkose verwendet:

Als Praemedikation diente 0,5 mg Atropinsulfat pro Tier i. m. circa 30 min. vor der i. m. Injektion von Propionylpromazin¹⁰ als Neuroplegikum in der Dosierung von 0,035 ml/kg KG. Diese Dosis reichte aus, um die Tiere wenige Minuten später rasieren zu können. Zur Analgesie wurde den Hunden 20 min. später Methadon mit atropinähnlich wirkender Substanz¹¹ in einer Dosierung von 0,3 ml/kg KG i. m. verabreicht. Hierdurch wurde ein analgetischer Dämmer-schlaf erzielt, der eine problemlose Intubation der Tiere ermöglichte. Bei dieser Neuroleptanalgesie blieben die Hunde jedoch weckbar und waren empfindlich gegen laute und hell klingende Geräusche (70). Die eigentliche Narkose wurde 3 min. lang mit 3 % Halothan eingeleitet über ein 1 : 1 Sauerstoff-Lachgas-Gemisch. Die Atemfrequenz wurde auf 15 Züge pro min. eingestellt, das Gasgemisch auf circa 300 ml pro Atemzug bezogen auf ein KG von 30 kg. Dies ergab ein durchschnittliches Atemminutenvolumen von 4,5 Litern (42). Die Halothankonzentration wurde dann auf 0,6 % gesenkt und während der gesamten Dauer der Operation beibehalten. Eine zusätzliche Gabe von Tranquilizern und Muskelrelaxantien war nicht nötig. Die Aufwachphase der Tiere betrug circa 30 min., ein ruhiger zweistündiger Nachschlaf folgte.

Diese Art der Narkose ermöglichte es, auch beim S.H. auf die gleiche Weise zu verfahren, da nur ein Narkosegerät zur Verfügung stand und die Neuroleptanalgesie eine alleinige Wirkung von circa 1 Stunde hat. Lediglich bei der zweiten Operation wurde für den S.H. die Barbituratnarkose gewählt, dieser Hund wurde am Ende der zweiten Operation mit 20 ml KCl euthanasiert.

Praemedikation	Atropinsulfat	0,5 mg Tier i. m.
Neuroleptie	Combelen	0,035 ml/kg KG i. m.
Analgesie	Polamivet	0,30 ml/kg KG i. m.
Narkose	Halothan	3 % 3 min. lang 0,6 % bis Ende 1:1 O ₂ :N ₂ O 4,5 L für 30 kg KG

Abb. 4 Narkoseschema für die verwendeten Versuchshunde

⁹ Halothan®, Hoechst AG, Frankfurt

¹⁰ Combelen®, Bayer AG, Leverkusen

¹¹ Polamivet®, Hoechst AG, Berlin

c. Intra-, inter- und postoperative Versorgung

1. Eingangsuntersuchung

Einige Tage vor der Durchführung eines Experimentes wurden die Versuchstierpaare einer allgemeinen Untersuchung unterzogen. Nur gesunde Hunde wurden für das Experiment zugelassen. Zusätzlich wurden folgende Laboruntersuchungen des Blutes vorgenommen: Bestimmt wurden Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, der Hämatokrit. Außerdem wurde ein Blutbild angefertigt.

2. Intraoperative Versorgung des E.H.

Zur Pankreatitisprophylaxe wurden Proteinaseinhibitoren in Form von Aprotinin¹² 500 000 KIE i.v. verabreicht.

3. Intraoperative Versorgung des S.H.

Circa 20 min. vor dem Öffnen der Gefäßklemme an der A. renalis wurden zur Thromboseprophylaxe 250 ml Dextran¹³ i.v. verabreicht.

4. Interoperative Versorgung des E.H.

Es erfolgte bis zur zweiten Operation völlige Flüssigkeits- und Nahrungskarenz, der Hund wurde parenteral ernährt (Glucose 40 %, Elektrolytlösung, Expafusin¹⁴). Zur Pankreatitisprophylaxe wurden täglich 200 000 KIE Aprotinin¹² i.v. verabreicht.

5. Interoperative Versorgung des S.H.

Dieser Hund konnte bis zur zweiten Operation Wasser und Futter ad libitum aufnehmen.

Zur Thromboseprophylaxe wurden täglich bis zur zweiten Operation 250 ml Dextran¹³ verabreicht, sowie 2 x täglich je 125 IE Calcium-Heparin¹⁵ s.c. pro kg KG und 2 x 0,5 mg Dihydergot s.c. injiziert.

6. Intraoperative Versorgung des E.H. (2. Operation)

Es wurde wie unter 3. geschildert verfahren. Vor Beendigung der Transplantation der allogenen Niere erhielt der Hund zur Förderung der Diurese 10 ml Lasix¹⁶ i.v. verabreicht.

7. Intraoperative Versorgung des S.H. (2. Operation)

Nach der Entnahme von Milz und Niere erfolgte die Euthanasie des Hundes mit 20 ml KCl-Lösung intravenös.

8. Postoperative Versorgung des E.H.

Es wurde wie unter 5. geschildert verfahren. Zusätzlich wurde in den ersten postoperativen Tagen parenteral ernährt.

¹² Trasylol®, Bayer AG, Leverkusen

¹³ Makrodex 6 %®, Knoll AG, Ludwigshafen

¹⁴ Expafusin®, Pfrimmer u. Co., Erlangen

¹⁵ Calcium-Heparin®, Nattermann GmbH, Köln

¹⁶ Lasix®, Hoechst AG, Frankfurt

9. Unterstützende Therapie und Schmerzstillung

Beide Hunde erhielten während den Operationen bis zu 500 ml phys. NaCl-Lösung per infusionem. Die Infektionsprophylaxe erfolgte durch tagliche i.m. Gabe von 75 mg Sisomycin¹⁷. Zur Schmerzstillung wurde 2 x täglich 2,5 g Metamizol-Na¹⁸ i.m. injiziert.

d. Operatives Vorgehen

1. Erste Operation des Empfängerhundes (E.H.)

Nach praeoperativer Vorbereitung des Hundes wird das Abdomen durch einen circa 25 cm langen Medianschnitt von der Regio xiphoidea bis zur Regio inguinalis eröffnet und mittels eines Bauchsperrers aufgespannt.

1.1. Explantation der Milz

Die Milz wird extracorporal verlagert und in ein körperwarmes, feuchtes Bauchtuch gelegt. Aus dem Lig. gastrolienale und dem Hilus lienis werden alle kleinen Gefäße freipräpariert, unterbunden und durchtrennt. Ebenso wird mit den Rami pancreatici verfahren, welche aus den Hauptästen der Milzgefäße entspringen und die Cauda pancreatis versorgen. Die Milzarterie wird bis in die Nähe ihres Ursprungs aus dem Truncus coeliacus mobilisiert, die Milzvene bis zu ihrer Vereinigung mit der Vena gastrica caudalis. Beide Gefäße werden hier, an der Stelle ihres größten Lumens, unterbunden, sorgfältig durchtrennt und die Milz als Ganzes entnommen.

1.2. Präparation der Milz

Das Explantat wird mit leicht wringenden Bewegungen über einer Schale von Speicherblut befreit, sodann über die Arteria lienalis mit 200 ml Heparin-Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 100 perfundiert und die Kompression erneut vorgenommen. Über die Ischämiezeit wird die Milz in feuchten Bauchtüchern bei Zimmertemperatur gelagert.

1.3. Pankreasresektion

Zur Verhinderung einer nekrotisierenden Pankreatitis wird die Cauda pancreatis an ihrer Demarkationsstelle reseziert, da dieser Teil des Organes nun nicht mehr nutritiv versorgt ist. Die Demarkation ist an der grau-schwätzlichen Verfärbung zu erkennen.

1.4 Nephrektomie

Um die Dauer der nach 2 - 4 Tagen erfolgenden Rücktransplantation erheblich zu verkürzen, wird der Hund zusätzlich rechtsseitig nephrektomiert. Die Niere wird dargestellt und mittels Elektrokoagulation einzelner versorgender Gefäße aus ihrer Umgebung gelöst. Der Harnleiter wird doppelt ligiert und abgesetzt. A. und V. renalis werden doppelt übereinander möglichst weit proximal ligiert, anschließend die Niere abgesetzt.

¹⁷ Extramycin®, Bayer AG, Leverkusen

¹⁸ Baralgin, Albert Roussel Pharma GmbH, Frankfurt

1.5. Wundverschluß

Der Verschluß des Abdomens erfolgt mit fortlaufender Peritonealnaht sowie Hautnaht mit Einzelknopflehten.

2. Erste Operation des Spenderhundes (S.H.)

2.1. Splenektomie

Nach einer wie vorab beschriebenen Laparatomie wird aufgrund der Raumschaffung die autologe Milz des Hundes entfernt. Sämtliche zu- und ableitenden Milzgefäße werden hierzu doppelt in Hilusnähe ligiert, sodann die Milz abgesetzt.

2.2. Linksseitige Nephrektomie

Da die zu transplantierende Milz vom E.H. an die A. und V. renalis sinister anastomosiert wird, erfolgt eine hilusnahe Nephrektomie. Die Niere wird dabei sorgfältig aus ihrem Bett gelöst, der Ureter unterbunden und abgesetzt, A. und V. renalis vorsichtig bis zu ihrer Mündung in die Aorta und die hintere Hohlvene freigelegt. Die aus der Nierenarterie hervorgehenden Rami suprarenales caudales werden doppelt ligiert und durchtrennt, ebenso die in die Nierenvene mündende V. testicularis bzw. ovarica. Nun werden A. und V. renalis mit 2 Bulldogklemmen möglichst weit distal der Niere abgeklemmt und das Organ hilusnah abgesetzt. Die verbleibenden Gefäßstümpfe werden über eine Knopfkanüle mit etwas Kochsalz-Heparin-Lösung (100 : 1) gereinigt.

2.3. Gewinnung eines arteriellen „Patches“

Da später für die venöse Milzanastomose ein kleines Stückchen Arterienwand benötigt wird, erfolgt die doppelte Ligatur der A. iliaca externa in einem Abstand von circa 3 cm. Dieses arterielle „Patch“ wird nun herausgetrennt und in phys. Kochsalzlösung aufbewahrt.

2.4. Implantation der allogenen Milz

Die Stümpfe der A. und V. lienalis der zu transplantierenden Milz werden nun fein präpariert, die V. lienalis an der dem Operateur zugewandten Seite in Längsrichtung circa 5 mm weit eingeschnitten. Ebenso wird mit der V. renalis des Spenderhundes verfahren. Durch diese Einschnitte entsteht die durch das Patch später aufzuspannende Venenraute. Das arterielle Patch wird nun zugeschnitten bis auf ein rautenförmiges Stück von circa 5 x 5 mm Seitenlänge. V. lienalis und V. renalis werden nun mittels zweier Haltenähte links und rechts der Einschnitte End- zu End aneinandergebracht und einzeln verknötet. Mit einem Faden der Haltenähte wird in fortlaufender Naht der Halbkreis der venösen Anastomose unterhalb des eingeschnittenen aufzuspannenden Rautenstückes vernäht. Jetzt werden zwei gegenüberliegenden Spitzen des Patches in die Vene eingenäht, dann werden die noch offenen Seiten mit forlaufenden Nähten verschlossen. Diese Methode verhindert eine Stenosierung der Anastomose, die bei Vorversuchen mit normaler End- zu End-Technik immer wieder auftraten. A. lienalis und A. renalis werden in herkömmlicher Weise in End- zu End-Technik mit fortlaufender Naht anastomosiert. Vor der Abnahme der Bulldogklemmen erhält der Hund 250 ml Makrodex 6 %® intravenös, um eine Throm-

bosierung der venösen Anastomose zu verhindern. Das Implantat wird nun so im Abdomen gelagert, daß die anastomosierten Gefäße gestreckt und ohne Knickstelle zu liegen kommen.

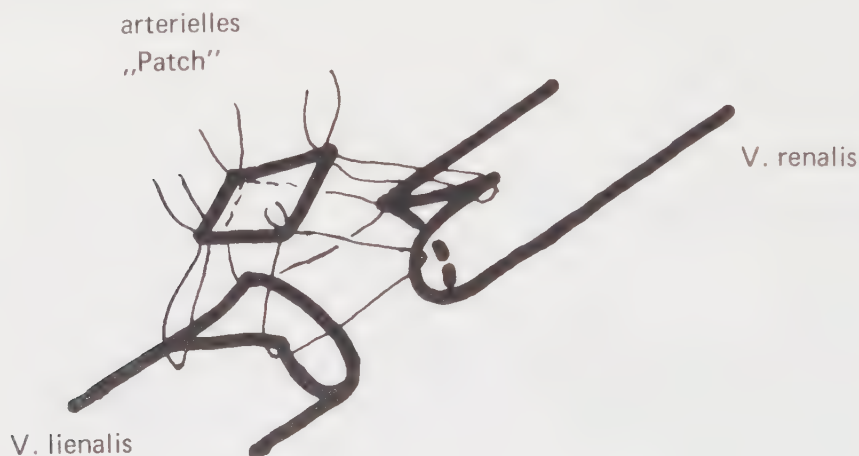


Abb. 5 Venöse Anastomosenplastik

Durch Einschnitte in die beiden Venen entstehen 2 keilförmige Ausschnitte, in die das arterielle „Patch“ eingepasst wird.

2.5. Verschuß des Abdomens

Der Verschuß des Abdomens erfolgt mit zwei fortlaufenden Nähten.

3. Zweite Operation des Spenderhundes

Nach Intervallen von 2, 3 bzw. 4 Tagen wird das Abdomen des Hundes erneut eröffnet und die Durchblutung der Milz sowie die Durchgängigkeit der Anastomosen nachgeprüft. Nur gut perfundierte Milzen kommen zur Retransplantation. Bei schlecht perfundierten Milzen wurde das Experiment an dieser Stelle abgebrochen.

3.1. Explantation der Milz

Das vormals implantierte allogene Organ wird proximal der Gefäßanastomosen abgesetzt und entnommen.

3.2. Perfusion der Milz

Wie bei der ersten Operation des E.H. bereits beschrieben, wird das Organ perfundiert und bis zur späteren Weiterverwendung gelagert.

3.3. Rechtsseitige Explantation der Niere

Das Organ wird aus seinem Bett gelöst, der Ureter bis weit nach caudal freipräpariert und dort durchtrennt. Die Nierengefäße werden bis zur Aorta bzw. Hohlvene

freigelegt. Diese beiden Gefäße werden ebenfalls mobilisiert und neben den Mündungsstellen der Nierengefäße cranial und caudal ligiert. Weiter erfolgt die großzügige Explantation der Niere unter Mitnahme von Teilen der Aorta sowie der Hohlvene.

3.4. Perfusion der Niere

Sofort nach der Entnahme wird die Niere bei möglichst kurz gehaltener warmer Ischämiezeit mit 300 bis 500 ml eiskalter Euro-Collins-Lösung¹⁹ perfundiert. Die Aufbewahrung der Spenderniere erfolgt in sterilem Eis.

3.5. Gewinnung eines arteriellen „Patches“

Wie bereits bei der ersten Operation dieses Hundes geschildert, wird dem Tier noch ein Stück der A. iliaca externa entnommen. Daraufhin folgt die Euthanasie dieses Hundes.

4. Zweite Operation des Empfängerhundes (E.H.)

4.1. Linksseitige Nephrektomie

Nach erneuter Laparotomie und Erweiterung des Schnittes nach caudal wegen der später vorgenommenen Nierenimplantation erfolgt die Nephrektomie in der gleichen Weise wie bei der ersten Operation des S.H. bereits beschrieben.

4.2. Retransplantation der ausgeliehenen autologen Milz

Nach der linksseitigen Nephrektomie wird die autologe Milz an die linken Renalgefäße heterotop in End- zu End-Technik transplantiert. Hierzu wird die vormalige, an den Milzgefäßen verbliebene, Anastomose entfernt. Wie bei der ersten Operation des S.H. beschrieben, wird nun mit dem neuen gewonnenen Patch ebenso verfahren, wieder wird es zur Aufspannung der venösen Anastomose verwendet. Vor der Fertigstellung der Anastomosen erhält der Hund 250 ml Makrodex 6%® i.v. als Thromboseprophylaxe.

4.3. Implantation des Nierenallotransplantates vom S.H.

Zunächst wird die Aortenaufteilung aufgesucht und dann A. und V. iliaca externa dargestellt. Beide Gefäße werden freipräpariert, von ihrer Umgebung mittels Bändchen abgehoben, kleinere Nebengefäße werden unterbunden und durchtrennt. Vene und Arterie werden jetzt mit zwei großen, gebogenen Gefäßklemmen abgeklemmt und in Längsrichtung circa 1,5 cm weit eingeschnitten. Nach der Praeparation der Nierengefäße werden diese in End- zu Seit-Technik an die Iliacalgefäße anastomosiert, wobei die Niere durch Eiskissen laufend gekühlt gehalten wird. Nach sichtbarer Urinabsonderung aus dem Ureter wird dieser durch einen submukösen Tunnel in die Blasenrückwand mit atraumatischem Nahtmaterial eingenäht.

¹⁹ Euro-Collins-Lösung, Biotest Serum Institut GmbH, Frankfurt/M.

4.4. Verschuß des Abdomens

Nach sorgfältiger Lagerung der transplantierten Organe (Milz- und Nierengefäße gestreckt) wird das Peritoneum in fortlaufender Naht, die Haut mit Einzelknopfheften verschlossen.

Für die Operationen verwendetes Nahtmaterial:

Anastomosen: 6-0 Prolene, Ethicon Hamburg
Gefäßligaturen stark: 4-0 Mersilene, Ethicon Hamburg
Gefäßligaturen klein: 6-0 Mersilene, Ethicon Hamburg
Ureterimplantation: 3-0 Vicryl, Ethicon Hamburg
Haltebändchen: Mersilene Halteband, Ethicon Hamburg
Abdominalverschuß: Supramid, Braun-Dexon, Melsungen

e. Nierenfunktionskontrolle

Die Abstoßungskrisen der allogenen Nierentransplantate in der Phase nach der zweiten Operation wurden verlaufsmäßig beobachtet. Dabei wurde der Anstieg der harnpflichtigen Substanzen Creatinin und Harnstoff im Serum gemessen, die Diurese qualitativ überwacht und bei erfolgter Urinabgabe der Urinstatus bestimmt.

Creatinin bildet in alkalischer Lösung mit Pikrinsäure eine gelborange gefärbte Verbindung, deren Farbintensität der Creatinin-Konzentration proportional ist und bei 500 – 550 nm im Spektralphotometer gemessen wird²⁰. Die Methode lehnt sich an die Angaben von **Popper** (57) sowie **Seelig** und **Wüst** (51) an. Die Normalwerte für Serumcreatinin liegen beim Hund bei 1 – 1,5 mg% (44).

Harnstoff wird in der durch Urease katalysierten enzymatischen Reaktion unter Bildung von Ammoniumcarbonat gespalten. Die hierbei entstehenden Ammoniumionen reagieren mit Phenol und Hypochlorit unter Bildung eines blauen Farbstoffes, dessen Farbintensität der Harnstoffkonzentration proportional ist und zwischen 530 und 570 nm gemessen wird²¹. Die Methode lehnt sich an die Angaben von **Fawcett** und **Scott** (24) an. Die Normalwerte für Serumharnstoff liegen beim Hund bei 25 – 60 mg% (44).

Tiere mit starker Urämie und zusehends schlechter werdendem Allgemeinbefinden (2 Tage nach Anurie und 3-fach erhöhten Normwerten) wurden euthanasiert, makropathologisch untersucht, sowie die Transplantate zur Pathologie in 5 % Formalin fixiert.

²⁰ Biochemica Test Combination Creatinin,
Boehringer Diagnostika GmbH, Mannheim
und Photometer Eppendorf

²¹ Biochemica Test Combination Harnstoff
Boehringer Diagnostika GmbH, Mannheim

III. Immunologische Teste

a. Hämolytische Plaques Antikörper-bildender Zellen

Es wurde versucht, die Technik des Plaque-Assay nach Jerne (38, 39) auf das Versuchsmodell Hund zu übertragen. Lymphozyten aus peripherem Blut, Lymphknoten sowie aus Milzen der immunisierten Tiere wurden dazu mit Hilfe des isochemischen Gradientenverfahrens (Überschichtung über Ficoll-Isopaque²² 1,077) aus dem jeweiligen Gewebe isoliert und dreimal je 5 min. lang bei 1200 U/min. in Hank'scher Lösung gewaschen. Danach erfolgte eine mikroskopische Überprüfung der Vitalität der isolierten Zellen. Für verschiedene Versuchsreihen wurden die Agarsorten Indubiose A 45²³ und Sea-Plaque-Agarose²⁴ teils mit, teils ohne Grundagar (1 %) in einer Konzentration von 0,6 bis 0,8 % verwendet. Auch die Verwendung verschiedener Lösungsmittel wurde variiert. Zur Schonung der in den Agar eingegossenen Lymphozyten wurde die Temperatur zur Zeit des Eingießens auf 38 – 40°C erniedrigt. Die Inkubationszeiten wurden verlängert (bis zu 48 Stunden), als Komplement wurde Meerschweinchen²⁵- und/oder Kaninchenkomplement²⁶ verwendet. Die Zugaben erfolgten bis zu vier mal in stündlichen Abständen. Makroskopisch optisch positiv erscheinende Ergebnisse wurde mikroskopisch überprüft.

b. Nachweis hämolysierender Antikörper

Um im Serum der immunisierten Tiere hämolysierende Antikörper quantitativ bestimmen zu können, wurde der Test nach Mancini (47), modifiziert nach Chiller und Weigle (19), angewendet. Dieser Test beruht auf der Basis der Diffusion der im Serum erscheinenden Antikörper in ein mit dem Antigen angereichertes Agar-medium, was zur Lysis der antigenen Erythrozyten führt.

Zunächst wurde eine für die auszugießende Anzahl von Petrischalen (98 mm Ø) notwendige Menge Agar wie folgt hergestellt:

10 ml 0,8 %iger Sea-Plaque-Agarose²⁴ mit 0,4 ml DEAE-Dextran²⁷ (10 mg/ml) pro Petrischale wurden kurz aufgekocht, dann bei 70°C im Wasserbad aufbewahrt, in einzelne vorgewärmte Reagenzglaschen pipettiert und bei circa 43°C gehalten. Als Lösungsmittel für den Agar wurde Hank'sche Lösung verwendet.

In der Zwischenzeit wurden geeignete Mengen Pferde- und Schaf-Erythrozyten durch dreimaliges Waschen von EDTA-Blut (1:10) in phys. NaCl-Lösung bei 3000 U/min. gewonnen und dann auf $7,5 \times 10^9$ Zellen pro ml eingestellt.

Jeweils 0,8 ml dieser Zellsuspension wurden in die mit Agar gefüllten Gläser pipettiert, durch Kippen gemischt und in die waagrecht gelagerten Petrischalen

²² Ficoll-Isopaque 1,077

²³ Indubiose A 45, L'Industrie Biologique Francaise

²⁴ Sea-Plaque-Agarose, MIC Maritime Colloid, New York

²⁵ guinea-pig-complement, Behring Werke AG, Marburg

²⁶ Kaninchenkomplement, Behring Werke AG, Marburg

²⁷ DEAE-Dextran, Pharmacia, Uppsala, Schweden

gegossen. Von mit HRBC und SRBC gemischten Agar wurden jeweils dieselbe Anzahl von Schalen ausgegossen, sodann nach Festwerden des Agars 12 Stunden im Kühlschrank bei 4°C gelagert.

Eine eigens angefertigte Stanzschablone wurde auf den Agar aufgelegt und damit 12 Löcher in Form eines Zifferblattes sowie ein zentrales Loch gestanzt. Der in den 3 mm im Durchmesser großen Löchern enthaltene Agar wurde mit Pasteurpipetten an einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt, anschließend die Stanzschablone wieder abgenommen. Von jedem Serum einer Versuchsreihe wurden Verdünnungen mit phys. NaCl-Lösung hergestellt und zwar 1:0, 1:1 und 1:2. Jeweils zwei Löcher einer jeden Schale, also HRBC wie SRBC beschickte Schalen, wurden mit unverdünntem Serum randvoll gefüllt, die nächsten zwei mit 1:1 verdünntem Serum, die dritten mit 1:2 verdünntem Serum (= jeweils 25 µL). Somit hatten jeweils zwei Seren einer Versuchsreihe auf einer Schale Platz. Das zentrale Loch diente der Kontrolle mit Hank'scher Lösung.

Zur Erreichung von Diffusion und Festigkeit der Antikörper erfolgte nun eine 44-stündige Inkubation der Agarplatten bei 4°C. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Stanzlöcher mit 1:10 verdünntem Meerschweinchenkomplement überschichtet und im Brutschrank bei 37°C unter 5 % CO₂-Begasung 1 Stunde lang bebrütet. Der Vorgang der Komplementüberschichtung und Bebrütung wurde noch 3 x wiederholt, um voll abgeschlossene Lysierungen der Erythrozyten rund um die mit Serum gefüllten Stanzlöcher zu erreichen.

Schließlich wurden die Durchmesser der kreisförmig um die Löcher angeordneten Lysiszonen über einer starken Lichtquelle mit einer Schablone gemessen und notiert.

Aus dem kreisförmigen Durchmesser der Lysiszonen wurden die Flächen nach der Formel $r^2 \times \pi$ berechnet und davon die Fläche der Stanzlöcher subtrahiert. Die Flächen der Lysiszonen um das unverdünnte Serum wurden einfach, die um das 1:1 verdünnte Serum doppelt und die um das 1:2 verdünnte Serum vierfach gewertet. Das Mittel dieser Werte wurde mit der Benennung „Nettodiffusionsfläche in mm²“ in die Tabellen eingetragen. Rechnerisch läßt sich aus dieser Nettodiffusionsfläche durch Multiplikation mit der Höhe des Agars (1,4 mm) das Volumen ermitteln, in dem sämtliche Erythrozyten lysiert wurden. Die Menge der lysierten Erythrozyten entspricht ihrer Konzentration im Agar multipliziert mit dem Volumen des Lysiszylinders.

c. Nachweis hämagglutinierender Antikörper

Mit dem direkten Hämagglutinationstest wurde versucht, im Serum der Hunde Hämagglutinine nachzuweisen, die gegen HRBC bzw. SRBC gerichtet sind. Ebenso wurde die Übertragbarkeit der Antikörper produzierenden Zellen durch die allogene Milztransplantation sowie die Retransplantation verfolgt. Die in gefrorenem Zustand aufbewahrten zu untersuchenden Seren wurden in einer fortlaufenden Verdünnungsreihe mit phys. NaCl-Lösung bis zum Verhältnis 1:4096 verdünnt und der Test mit vorhandenem Antigen, also HRBC und SRBC, mit der bekannten Mikro-

titermethode durchgeführt. Die tiefgefrorenen Seren wurden im Wasserbad (56°C) aufgetaut und 30 min. lang inaktiviert. Die Inkubation mit der Erythrozytensuspension erfolgte 90 min. lang im Brutschrank bei 37°C. Die Reaktion wurde während 60 min. im Kühlschrank bei 4°C abgeschlossen.

Abgelesen wurde mit bloßem Auge, als Titerstufe wurde die Verdünnung mit der letzten positiven Reaktion angegeben.

d. DLA-Antigentestung

Bei 5 Versuchstierpaaren wurde vor dem Experiment, nach der ersten sowie nach der zweiten Operation durch DLA-Typisierung²⁸ der Lymphozyten nach Terasaki (65) versucht, so einen eventuellen Lymphozytentransfer nachweisen zu können.

Dazu wurde venöses Blut der Hunde defibriniert und mit phys. NaCl-Lösung 1:2 verdünnt. Das verdünnte Blut wurde über einen Ficoll-Isopaque-Gradienten (D = 1,077) 15 min. bei 1000 x g zentrifugiert. Der entstehende Lymphozytenring wurde abgehoben und 15 min. bei 160 x g in Hank'scher Lösung gewaschen. Die Zellen wurden auf 2×10^3 pro Mikroliter eingestellt.

Die Zellsuspension wurde zusammen mit dem Serum auf Mikrotiterplatten (Terasaki-Tray) pipettiert²⁹, wobei pro Vertiefung je 1 Mikroliter Serum und Zellsuspension unter einem Film von Paraffinöl gemischt wurden. Nach 30 min. Inkubation bei Zimmertemperatur wurde Komplement aus gepooltem Kaninchen-serum (5 Mikroliter) hinzugegeben. Nach einer weiteren Stunde Inkubation wurden lysierte Zellen mit 5 Mikroliter Eosin gefärbt und mit 5 Mikroliter Formalin fixiert. Die Ablesung erfolgte im umgekehrten Phasenkontrastmikroskop.

Die Histokompatibilitätstestung wurde mit 59 DLA-Antiseren durchgeführt. 11 DLA-Antigene können mit diesem Serumsatz bestimmt werden. Es sind dies die DLA-Antigene A 1, 2, 3, 7, 9 und B 4, 5, 6, 12, 13.

IV. Pathologisch-anatomische Untersuchungen

Bei allen Versuchstieren wurde post mortem eine Sektion durchgeführt. Die Veränderungen der Transplantate wurden makroskopisch beurteilt, die Durchgängigkeit der Anastomosen regelmäßig überprüft. Auch bei interkurrenten Todesursachen wurden die Transplantate beurteilt.

Von Nieren und Milzen wurden Proben in 5%igem, phosphatgepuffertem Formalin fixiert, andere Teile der Milzen wurden in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80°C bis zur histologischen Untersuchung aufbewahrt.

Die histopathologische Untersuchung erfolgte von Paraffinschnitten von 3 - 5 µ Dicke, sowie von Gefrierschnitten.

Gefärbt wurde mit Hämalaun-Eosin, Perjodsäure und nach van Gieson. Die Auswertung erfolgte qualitativ.

²⁸ Dog Leucocyte Antigens

²⁹ Hamilton-Mikrotiterspritzen

C. Ergebnisse

I. Versuchsablauf

a. Überlebenszeit

Die Ergebnisse der Versuche zeigen, daß die Transplantatüberlebenszeit der allogenen Nierentransplantate durch den gleichzeitigen allospezifischen Milztransfer nicht verlängert werden konnte. Die Abstoßung der Nieren trat in gleicher Weise ein wie bei Kontrolluntersuchungen (16, 20, 21, 55, 64, 69). Bei 3 - 4 tägigen „Leihmanövern“, wenn gut perfundierte Milzen zur Transplantation kamen, trat die Urämie sogar schneller, d. h. eher hyperakut, ein und auch histologisch zeigte sich eine massive, fast perakute Transplantatvaskulopathie. Die durchschnittlichen Überlebenszeiten der 15 verwertbaren E.H. ergaben folgende Werte:

2-Tagesexperimente: durchschnittlich 8,8 Tage Überlebenszeit

3-Tagesexperimente: durchschnittlich 7,6 Tage Überlebenszeit

4-Tagesexperimente: durchschnittlich 7,8 Tage Überlebenszeit

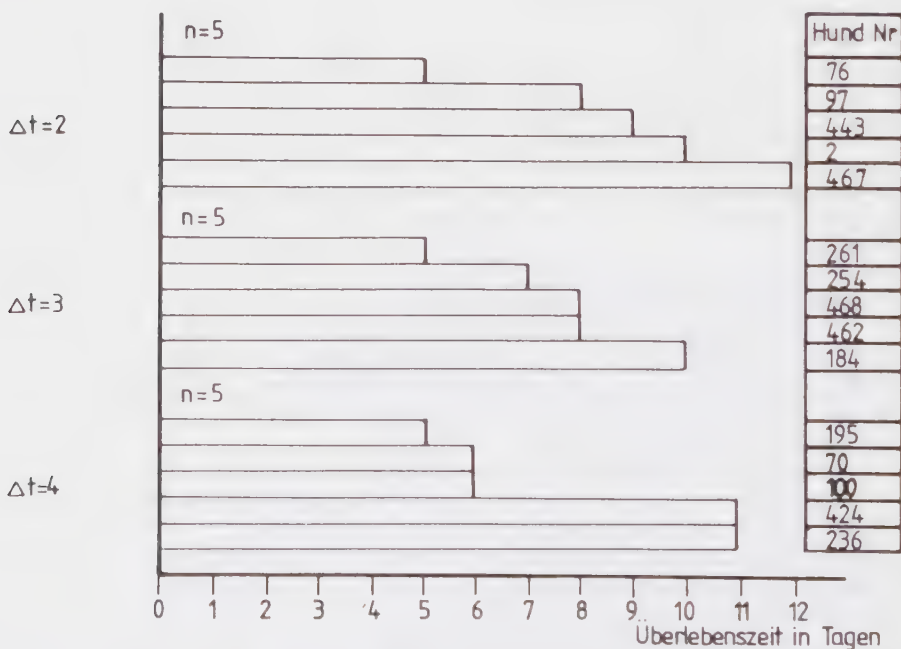


Abb. 6 Überlebenszeiten der E.H. nach der allogenen Nierentransplantation unter dem Einfluß von 2, 3, 4-tägigem Transfer einer allospezifischen „Leihmilz“.

b. Nierenfunktionskontrolle

Die Abstoßungskrisen beim E.H. konnten nach erfolgter Transplantation anhand von Serum-Creatinin und Serum-Harnstoff deutlich verfolgt werden. Bei beiden Werten erfolgte ein stetiger Anstieg bis in die Urämiephase, erreicht wurden bis zu zehnfach erhöhte Werte verglichen mit der Norm (siehe Abb. 7 und Abb. 8).

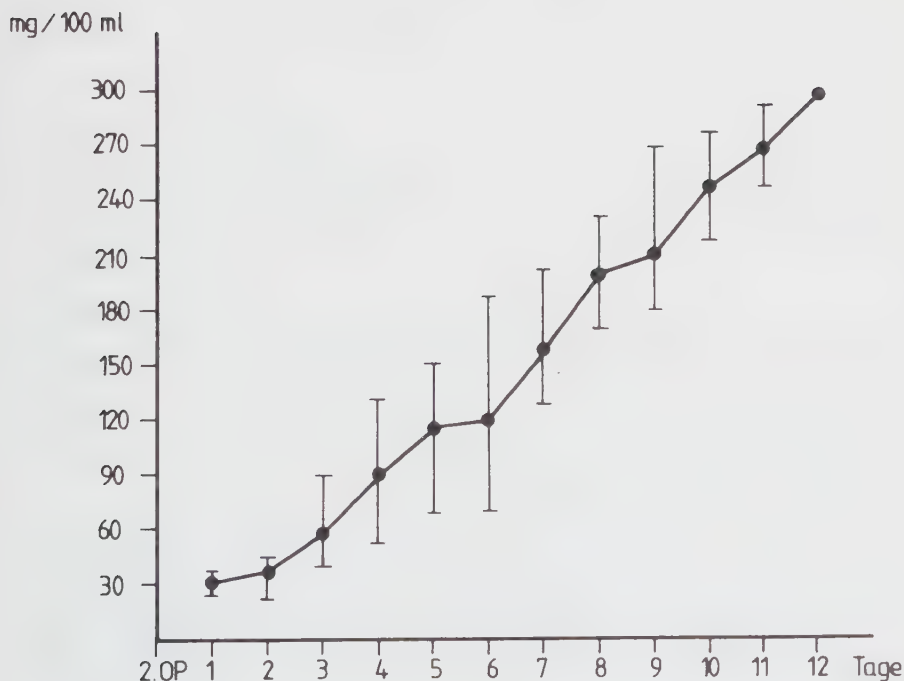


Abb. 7 Serum-Harnstoffwerte im mg/100 ml beim E.H. nach Re-Transplantation der Milz und Transplantation der allogenen Niere im Verlauf von 12 Tagen postoperativ.
n = Fallzahlen = von 15 auf 1 abnehmend.

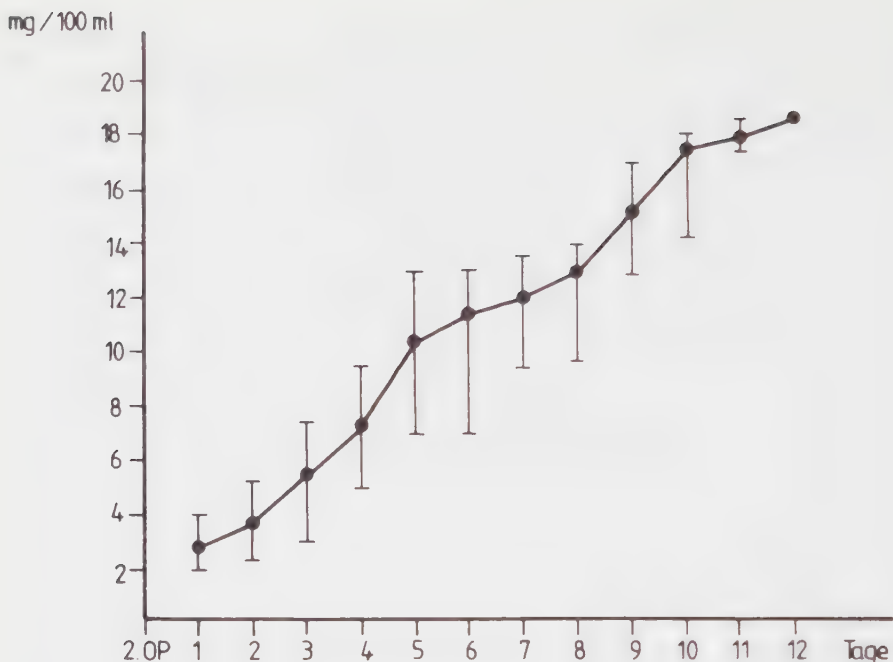


Abb. 8 Serum-Creatininwerte in mg/100 ml beim E.H. nach Re-Transplantation der Milz und Transplantation der allogenen Niere im Verlauf von 12 Tagen postoperativ.
n = Fallzahlen = von 15 auf 1 abnehmend.

c. Pathologisch-anatomische Untersuchungen

1. Milzpathologie nach erfolgter Retransplantation

Bei 4 der ersten 12 Versuche konnte die zweite Operation nicht durchgeführt werden, da komplette Gefäßverschlüsse der V. lienalis im Bereich der Anastomosen vorlagen. Diese Milzen waren abnorm vergrößert und pulpös hyperplastisch, teilweise bereits in nekrotischem Zustand. Die Einführung der "low-dose"-Heparinisierung sowie die Anwendung von Dihydroergotamin verbesserte die Erfolgsraten. Die danach zur Untersuchung kommenden Milzen waren weniger vergrößert und größtenteils gut perfundiert.

Histopathologisch konnten in den Milzsinus deutlich vermehrt Granulozyten und Plasmazellen gefunden werden. Die Follikel in den erhaltenen Teilen der Milzen waren zahlreich und deutlich ausgebildet, zum Teil stark vergrößert und reich an Keimzentren. Selten fanden sich runde, scharf umschriebene Follikel, öfter traf

man auf unregelmäßig verteilte, länglich ausgezogene, unscharf von der angrenzenden Pulpa abgetrennte Follikel. Zahlreiche kleine Lymphozyten und Plasmazellen waren hier zu erkennen. Die rote Pulpa zeigte zum Teil starke Hyperämie und Erythrozytenanschnappung. Vermehrt konnten Mitosen gefunden werden, was als morphologisches Korrelat zur serologisch nachgewiesenen immunologischen Aktivität der Milz angesehen werden kann. Gefäßwandinfiltrate, die auf eine Immunvaskulitis schließen ließen, waren nicht anzutreffen.

In einer durchgeführten Pilotstudie, bei welcher der S.H. die allogene Milz 6 Tage lang behielt (Hund 409), konnte man in der transplantierten Milz zahlreiche Plasmazellen und das Fehlen von Keimzentren beobachten. Auch waren in dieser Milz immer wieder Mitosen erkennbar, was auf eine Aktivität der Follikel hindeutet. Eventuell sprechen diese Mitosen in den Follikeln für ein graft-versus-host-Reaktion der Milz gegen den antigen erscheinenden Organismus. Nicht sicher ist auch die Rolle der reichlich vorhandenen Plasmazellen und ihrer möglichen Antikörperbildung gegen den Wirt, da die Follikel erstaunlich gut erhalten waren und keine Anzeichen von Nekrosen aufwiesen.

2. Pathologie der transplantierten Nieren

Bei allen transplantierten Nieren, welche im Empfängerhund länger als 5 Tage verblieben, zeigte sich eine zum Teil massive akute Transplantatvaskulopathie.

Diese Abstoßungsreaktionen zeigten sich überwiegend in arteriellen Gefäßverschlüssen mit perivaskulären entzündlichen Reaktionen und einer dichten Lymphozyteninfiltration. Häufig zeigten die Glomeruli in den Kapillarlichtungen viele Granulozyten und Fibrinthromben. Zahlreiche Glomeruli waren vollständig nekrotisiert. In weiteren Fällen zeigten sich zusätzlich noch Gefäßwandproliferationen und eine Verquellung der Tubuli sowie interstitielles Oedem.

3. Korrelation zwischen Milz- und Nierenpathologie

Rein makroskopisch konnte man erkennen, in welchem Maße die transplantierten Milzen noch vollständige, teilweise oder keine Funktion mehr hatten. In jedem Fall kam es zu einer Rejektion der transplantierten Niere. Histologisch konnten die Transplantatreaktionen der Niere umso früher nachgewiesen werden, je besser die Funktion und Durchblutung der retransplantierten autologen Milzen waren.

E.H.-Nr.	Durchblutung der Milz	Abstoßung der Niere		Überlebenszeit in Tagen
		humoral	zellulär	
2	++	+++	++	10
76	+	—	+	5
70	+	fragl.	fragl.	6
97	+	+	+	8
100	+	fragl.	fragl. +	6
184	+++	+++	+	10
195	++	—	+	5
236	+++	+	+++	11
254	+++	+++	++	7
261	+++	+++	+	5
424	+	+++	+++	11
443	++	+++	++	9
468	+++	+++	+	8
462	++	++	++	8
467	+	++	++	12

Tab. 1 Pathologie der transplantierten Organe nach Retransplantation der autologen Milz und Implantation der allogenen Niere. Aufgezeigt ist die Durchblutung der Milz im Vergleich zum Abstoßungstyp der Niere und den Überlebenszeiten
 Milzdurchblutung gut = + + + , mittel = ++, schlecht = +
 Nierenreaktion stark = + + +, mittel = ++, schwach = +
 (Beschreibung von humoraler und zellulärer Abstoßung siehe D. II. e.)

E.H.-Nr.	S.H.-Nr.	Art der Komplikationen beim E.H.	Art der Komplikationen beim S.H.
105	106	Pankreatitis	Darminvagination
000	156	Pankreatitis	Milzvenenthrombose
162	158		Milzvenenthrombose
168	165		idiopatische Herzdilatation
178	176	Pankreatitis	Milzvenenthrombose
181	182		Milzgefäßthromben
221	237		Verblutung
263	266	Kreislaufchock nach 2. OP	
284	285		Verblutung diffus
414	409	Verblutung	GvH, Abstoßung siehe C.I.c.I.
429	425		Kreislaufversagen nach Schock
454	455		intraoperativer Herztod

Tab. 2 Pathologie der nicht zur Auswertung gekommenen und abgebrochen Versuche. Bei den Komplikationsarten sind die interkurrenten Todesursachen wie auch die Gründe des Versuchsabbruches angegeben. Gegenübergestellt sind die jeweiligen Versuchstierpaare.

II. Immunbiologische Vorgänge

a. Nachweis und Übertragung Antikörper-bildender Zellen (Plaque forming assay)

Bei 7 Versuchstierpaaren wurden jeweils zwischen dem fünften und dem neunten Tag nach der ersten Immunisierung sowie laufend postoperativ variable Testreihen in Anlehnung an Jerne (38, 39) und Buschmann (12, 13, 14) durchgeführt und ausgewertet. Die Ergebnisse wurden zunächst makroskopisch betrachtet. Hierbei wurden pro Petrischale bis zu 3 kleine hämolytische Zonen entdeckt. Nach mikroskopischer Überprüfung dieser Zonen war jedoch im Zentrum der Lysis nicht wie erwartet ein Lymphozyt aufzufinden, vielmehr handelte es sich immer um ein Artefakt und damit um einen spontan gebildeten hämolytischen Hof. Plaquebildende Zellen, welche gegen HRBC und SRBC gerichtet waren, konnten bei den Versuchshunden mit der beschriebenen Methodik in keinem einzigen Falle nachgewiesen werden. Da Antikörperaktivität im Serum sehr wohl nachgewiesen werden konnte, ist die Antikörper-Plaque-Technik in ihrer Anwendung beim Hund zumindest fraglich und neu zu überdenken. Die Methode ist in der Literatur nicht beschrieben.

b. Nachweis hämolysierender Antikörper

Bei den im folgenden beschriebenen Testreihen wurden mit dem verwendeten Hämolysintest einige grundsätzliche Ergebnisse erreicht, welche gesondert auch quantitativ aufgezeigt werden:

Die Immunisierung der Tiere mit HRBC oder SRBC führt zu Bildung und Auftreten hämolysierender Antikörper in deren Serum.

Die Transplantation der Milz des mit HRBC immunisierten E.H. führt zur Übertragung von Antikörper bildenden Zellen, bewiesen durch stetigen Anstieg von gegen HRBC gerichteten Antikörpern beim mit SRBC immunisierten S.H.

- Die Rücktransplantation der Milz nach 2-4 Tagen führt beim E.H. zur Übertragung Antikörper bildender Zellen, deren Aktivität gegen SRBC gerichtet ist, sowie zum stetigen Anstieg dieser Antikörper beim mit HRBC immunisierten E.H.
- Die Bildung hämolysierender Antikörper gegen HRBC und SRBC bei den splenektomierten Kontrolltieren ist geringer als bei Hunden mit eigener Milz.

Die folgenden Tabellen zeigen die Bildung von hämolysierenden Antikörpern gegen HRBC beim E.H. und gegen SRBC beim S.H. sowie deren Übertragung durch die Transplantationen bei den immunisierten Hunden.

Tag	n	109	119	106	000	162	165	176	187	192	237	228	253	265	266	409	$\bar{x}$
- 10	15	0,00	0,00	2,14	0,80	0,41	0,00	0,00	2,11	0,33	0,73	0,00	0,27	1,98	0,13	0,00	0,60
- 9	15	0,00	0,61	0,00	1,75	0,98	0,75	0,00	0,00	0,59	0,73	0,00	0,00	1,50	0,00	0,00	0,46
- 8	15	2,00	0,00	0,00	3,00	0,58	1,84	0,66	0,00	1,11	3,02	0,00	1,63	2,27	0,15	1,98	1,22
- 7	15	2,70	0,00	2,07	7,78	1,06	3,93	0,00	1,54	3,14	6,72	0,00	3,92	5,12	0,00	2,12	2,67
- 6	15	3,12	0,00	5,43	14,77	2,60	7,35	0,00	3,17	7,21	8,43	5,09	4,32	12,14	0,00	7,53	5,41
- 5	15	6,52	6,50	7,27	17,92	4,59	7,41	8,12	4,58	10,00	11,51	10,14	6,18	16,74	5,55	9,51	8,84
- 4	15	6,56	6,00	8,74	21,98	4,25	9,51	10,41	14,79	11,22	10,12	10,98	8,73	21,21	6,07	9,99	10,70
- 3	15	8,70	8,00	8,00	12,00	7,07	9,95	14,32	24,74	12,46	24,18	11,14	12,24	32,85	13,71	8,77	13,88
2	15	8,12	8,80	14,90	13,06	7,50	6,05	16,72	28,72	23,42	37,12	17,80	15,30	39,71	15,42	10,50	17,54
- 1	15	13,05	19,29	12,23	15,42	10,89	13,81	20,10	32,07	33,79	48,34	20,19	15,89	43,20	16,78	12,00	21,80
1.OP	7	16,38	—	12,18	—	—	15,43	21,07	36,25	—	50,76	—	—	—	—	21,30	24,77
1	13	19,51	17,42	12,00	14,29	14,35	$\times$	18,13	38,21	29,00	13,73	14,68	9,29	—	14,78	16,39	17,83
2	11	20,44	13,85	32,25	18,22	—	—	—	42,00	16,06	$\times$	19,41	29,11	9,40	23,63	18,45	22,07
3	7	$\times$	71,55	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	38,19	43,51	18,72	—	23,48	52,21	19,64	$\times$	$\times$	38,19
4	4	—	60,27	—	—	—	—	40,43	$\times$	13,83	—	42,10	$\times$	—	—	—	39,16
5	0	—	$\times$	—	—	—	$\times$	$\times$	—	$\times$	—	$\times$	—	—	—	—	—

Tab. 3

Testung hämolysierender Antikörper beim S.H. mit **SRBC** immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Versuchshunde die Antikörperwerte gegen **SRBC** in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm² bis zur 2. Operation.

x = arithmetisches Mittel der Nettodiffusionsflächen

n = Fallzahlen

X = Exitus des Versuchstieres

- = keine Serumabnahme

→ = Tage der Immunisierung mit SRBC

Tag	n	109	119	106	000	162	165	176	187	192	237	228	253	265	266	409	$\bar{y}$
-10	15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
-9	15	0,00	0,32	0,64	0,65	0,27	0,00	0,83	0,00	0,56	2,02	3,17	2,12	2,31	0,00	0,75	0,91
-8	15	0,00	0,30	0,76	1,13	2,17	0,00	2,54	2,35	0,52	0,00	0,00	2,78	3,30	3,00	1,65	1,37
-7	15	0,00	2,00	0,93	0,00	0,59	1,32	0,87	0,10	1,10	2,28	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	0,65
-6	15	1,12	1,18	0,76	2,76	0,00	1,46	4,15	0,00	0,57	4,05	0,19	0,00	0,43	0,00	0,00	1,11
-5	15	2,08	1,57	2,08	2,59	5,28	4,53	4,16	3,46	0,68	0,00	4,75	0,00	0,00	0,00	0,00	2,08
-4	15	1,02	1,11	0,36	3,54	1,90	5,48	2,36	3,96	1,95	0,70	3,26	0,00	2,06	0,00	2,01	1,98
-3	15	6,05	0,00	0,18	2,55	2,18	0,00	2,05	0,79	1,86	0,00	6,02	1,55	0,00	4,10	3,38	2,05
-2	15	5,90	0,00	0,00	0,72	3,65	3,22	3,47	0,79	3,12	2,71	5,27	0,00	0,00	0,00	2,50	2,09
-1	15	4,99	1,73	2,07	0,00	4,51	1,40	0,00	0,09	4,20	0,00	4,60	0,00	1,75	0,00	0,55	1,73
1.OP	13	9,31	0,00	1,99	—	0,00	5,66	1,74	2,35	—	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,81	1,92
1	14	38,78	6,15	8,47	8,20	12,76	—	9,12	7,45	8,25	13,00	13,46	9,14	12,97	25,00	14,87	13,40
2	12	11,10	26,15	13,42	9,54	12,76	—	6,15	11,64	18,45	—	22,85	23,07	—	41,12	20,91	18,07
3	7	—	36,10	—	—	—	—	7,22	23,38	35,36	—	21,08	25,13	36,74	—	—	26,43
4	4	—	36,15	—	—	—	—	7,50	—	42,00	—	31,91	—	—	—	—	29,39
5	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—



Tab. 4 Testung hämolysierender Antikörper beim S.H. - mit **SRBC** immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Versuchshunde die Antikörperwerte gegen **HRBC** in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm^2 bis zur 2. Operation bei der ersten Operation erhält der Hund die Milz des mit **HRBC** immunisierten Tieres.

- y = arithmetisches Mittel der Nettodiffusionsflächen
 n = Fallzahlen
 X = Exitus des Versuchstieres
 - = keine Serumabnahme
 → = erstmaliger Kontakt mit anti-**HRBC**

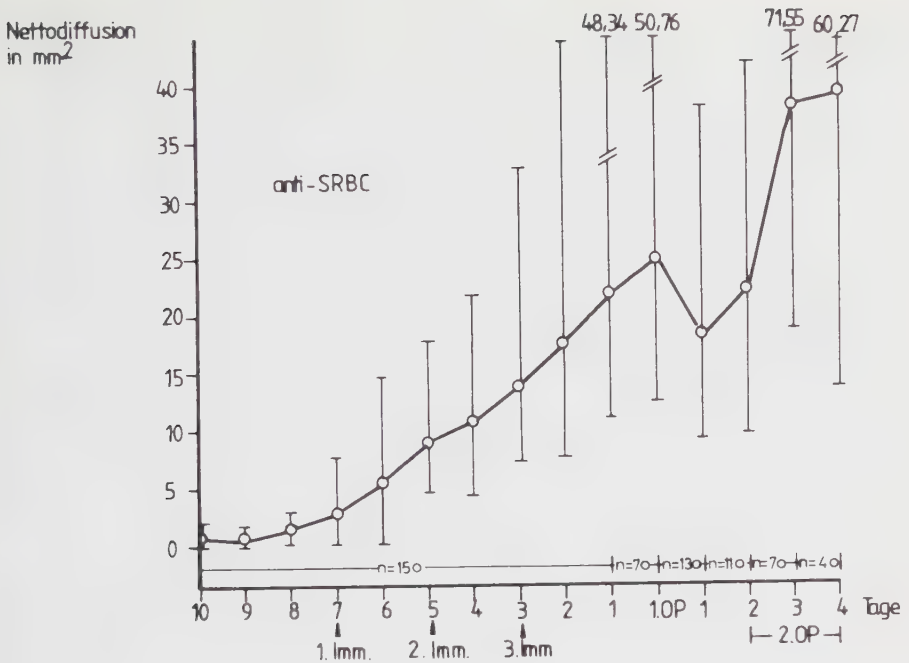


Abb. 9 Bildung hämolysierender Antikörper beim S.H. – mit **SRBC** immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Antikörperwerte in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm^2 gegen **SRBC** bis zur zweiten Operation. Die Zeiten der Immunisierungen mit **SRBC** sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die Abweichungen in der Kurve sind Minimum-Maximumangaben.
n = Fallzahlen

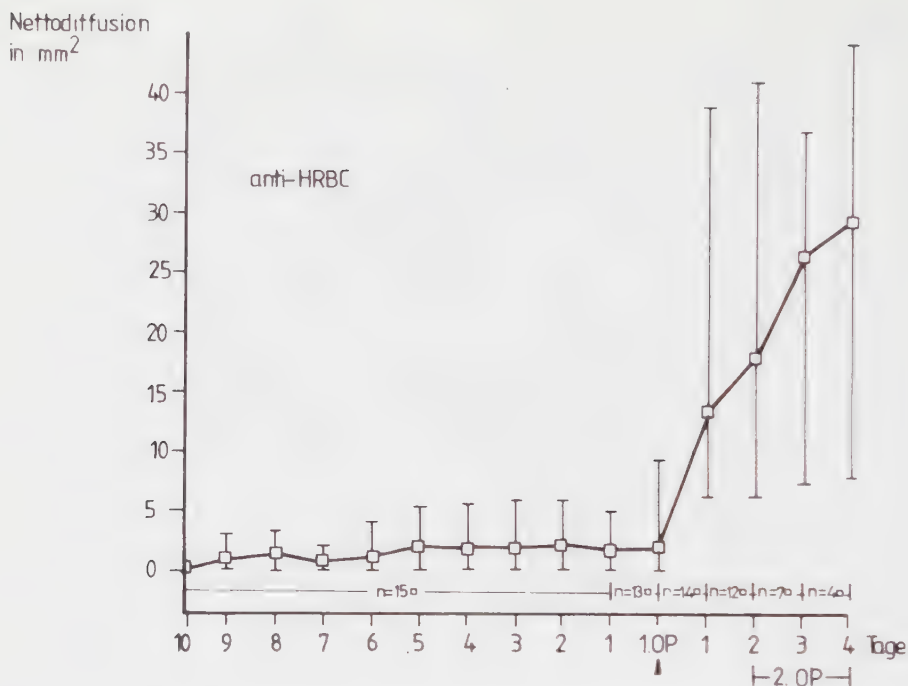


Abb. 10 Bildung und Übertragung hämolysierender Antikörper beim S.H. – mit SRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Antikörperwerte in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm^2 gegen HRBC bis zur zweiten Operation. Der Pfeil kennzeichnet den Zeitpunkt der Milztransplantation und damit den erstmaligen Kontakt des Tieres mit anti-HRBC. Die Abweichungen in der Kurve sind Minimum-Maximumangaben.
n = Fallzahlen

Abb. 9 zeigt die Zunahme hämolysierender Antikörper im Serum des S.H. Zunächst erfolgt nach den drei Immunisierungen ein stetiger Anstieg der gegen SRBC gerichteten Antikörper. Der deutliche Abfall der Kurve nach der ersten Operation ist offensichtlich bedingt durch die starke Hämodilution der Tiere. Bis zum vierten postoperativen Tag nehmen die Antikörper wieder stetig zu. Die abnehmenden Fallzahlen resultieren aus der Tatsache, daß unterschiedliche Intervalle zwischen Hin- und Rücktransplantation gewählt wurden (2–4 Tage).

Abb. 10 zeigt die gegen HRBC gerichteten Antikörper bis zum Zeitpunkt der ersten Operation in einem Verlauf nahe der Nulllinie. Mit der transplantierten Milz des E.H. werden Antikörper-produzierende Zellen auf den S.H. übertragen und somit Antikörper im S.H. gebildet die gegen HRBC gerichtet sind. Mit HRBC ist der E.H. vorimmunisiert worden. Der S.H. entwickelt nun nach Milztransplantation in zunehmendem Maße Antikörper gegen HRBC. Je länger die Verweildauer des allogenen Milztransplantates ist, desto höher steigt die Antikörperaktivität gegen HRBC im S.H. Ein Hund behielt das allogene Milztransplantat ausnahmsweise über einen Zeitraum von 6 Tagen, da der zugehörige E.H. vor der geplanten Retransplantation verstorben war. Die Aktivität der gegen HRBC gerichteten Antikörper in diesem Hund lag weiter im oberen Bereich.

Antikörperwerte, die niedriger waren als die Mittelwerte, traten überwiegend bei Tieren mit weniger gut perfundierten allogenen Milztransplantaten auf, solche die höher waren fanden sich meist bei gut perfundierten Transplantaten.

	Tag	n	97	100	105	156*	158*	168*	178*	184	195	221*	236	254	261	263	414	$\bar{x}$
	10																	
2. Imm	9	15	0,00	0,00	1,14	4,32	3,15	2,98	0,00	1,14	3,15	0,00	0,00	0,00	0,00	3,14	0,00	1,27
	8	15	0,15	0,00	1,68	5,35	4,27	3,10	1,18	2,35	4,30	0,00	2,09	0,00	0,00	9,28	0,00	2,25
	7	15	0,00	1,10	0,09	7,41	8,22	3,84	2,45	3,46	9,73	0,00	5,70	0,48	0,00	3,45	3,27	3,28
3 Imm	6	15	5,58	2,35	10,49	7,43	18,00	9,88	3,80	2,35	7,75	4,12	6,57	1,25	15,30	33,14	7,81	9,66
	5	15	13,60	8,31	10,00	7,55	28,77	21,60	14,13	14,71	14,00	14,11	8,03	13,60	17,21	46,17	18,44	17,70
1 OP	4	15	16,91	20,45	20,97	19,73	30,00	15,10	23,80	20,00	18,85	17,25	18,73	19,00	19,35	45,04	58,90	24,46
	3	15	17,00	15,78	15,23	17,61	21,42	14,25	19,54	21,05	13,32	16,80	15,54	17,31	15,22	30,32	40,00	19,36
	2	14	15,77	20,73	15,71	21,24	36,28	14,22	21,24	11,64	17,08	11,24	26,11	14,86	20,90	50,35		21,24
	1	14	18,29	24,78	24,89	23,70	38,20	28,12	25,14	19,72	15,47	24,20	30,42	13,21	26,12	63,52		26,84
2 OP	14	22,55	25,64	20,12	24,89	37,42	29,57	26,14	19,71	17,45	23,02	28,42	19,71	22,15	35,19			25,14
	1	13	18,72	17,28		19,45	32,11	28,70	15,32	14,90	18,20	19,71	23,28	14,41	19,85	25,32		20,56
	2	13	15,84	17,55		22,77	25,42	22,99	14,90	19,29	17,56	15,32	24,96	11,85	18,02	53,11		21,72
	3	12	23,73	21,99		24,52	29,42	28,12	21,31	21,97	22,40	25,40	28,90	10,01	25,16			23,58
	4	12	28,50	57,33		31,81	32,37	30,21	24,55	29,53	28,52	27,42	32,50	24,09	25,16			31,00
	5	12	29,35	58,07		33,24	20,95	32,58	29,35	77,74	31,53	30,00	19,63	16,65	20,77			33,32
	6	10	23,53	30,21		26,24	16,81	27,00	20,27	19,35		25,71	16,72	24,57				23,96
	7	9	19,86			21,30	16,81	22,42	16,92	31,40		21,97	29,59	20,27				22,28
	8	8	18,73			22,12	18,52	21,37	18,75	48,17		20,05	21,51					23,65
	9	7				24,15	19,37	20,06	18,32	46,15		22,11	26,74					25,27
	10	7				22,48	19,98	20,18	17,56	24,57		23,81	27,43					22,29
	11	1				-	-	-	-			-	26,30					26,30
	12	0				-	-	-	-									-
	13	0				-	-	-	-									-
	14	0				-	-	-	-									-
	15	1				41,10	-	-	-									41,10
	16	0				-	-	-	-									-
	17	0				-	-	-	-									-
	18	0				-	-	-	-									-
	19	1				22,90	-	-	-			-						22,90
	20	0				-	-	-	-			-						-
	21	3				7,43	-	21,50	-			3,64						10,85

Tab. 5 Testung hämolysierender Antikörper beim E.H. – mit **HRBC** immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Versuchshunde die Antikörperwerte gegen **HRBC** in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm² während des gesamten Versuches. Mit * bezeichnete Tiere kamen nicht zur 2. OP.

x = arithmetisches Mittel der Nettodiffusionsflächen

n = Fallzahlen, X = Exitus des Tieres, - = keine Serumabnahme

Tag	n, n ₂	97	100	105	184	195	236	254	261	263	414	$\bar{y}$	156*	158*	168*	178*	221*	$\bar{y}_{\text{ges.}}$	$\bar{y}^*$
-10																			
- 9	15	0,00	0,00	0,00	0,00	2,04	0,00	0,00	3,78	0,00	0,00		4,80	0,00	2,64	0,00	0,00	0,84	
8	15	0,00	0,00	0,15	0,00	2,43	0,00	0,00	4,21	0,00	0,00		3,98	0,00	1,52	4,71	0,00	1,13	
7	15	0,00	0,00	4,73	0,18	2,73	0,00	0,00	5,06	3,50	0,00		3,84	0,00	0,91	2,71	3,01	1,84	
6	15	0,18	0,00	0,00	2,36	0,00	0,55	0,00	0,60	5,09	0,00		0,00	7,76	4,35	1,74	0,00	1,51	
- 5	15	2,70	0,00	0,00	1,18	0,00	1,83	0,00	0,00	3,48	0,00		6,09	5,92	2,10	0,00	0,00	1,55	
4	15	4,63	0,00	3,23	0,00	0,00	0,00	4,64	0,00	1,60	3,34		0,00	0,00	5,55	1,11	0,73	1,66	
3	15	0,61	0,00	0,00	3,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,24		2,02	0,00	3,88	0,00	0,00	0,95	
2	14	3,19	0,00	3,96	0,00	2,89	2,08	4,64	0,44	3,02			0,00	0,10	3,77	0,00	0,00	1,72	
- 1	14	2,72	0,00	0,00	0,00	1,07	0,00	1,78	0,00	4,34			0,00	0,00	5,82	0,00	0,00	1,12	
→ 2 OP	14	2,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,78			0,00	0,00	0,00	0,00	4,02	0,81	
1	8+5	5,62	5,40		9,95	9,73	3,53	24,16	23,66	8,42		11,31	0,70	0,84	2,07	0,82	1,04	1,09	
2	8+5	12,38	7,22		30,49	16,54	7,72	28,89	45,82	13,94		20,38	0,61	0,00	4,14	0,00	2,52	1,45	
3	7+5	31,95	17,46		27,09	22,79	19,70	31,61	82,89			33,36	0,00	0,00	2,24	0,48	1,07	0,76	
4	7+5	42,20	21,06		16,75	27,93	18,10	44,10	77,02			35,31	0,00	0,48	1,10	0,56	0,56	0,54	
5	7+5	53,71	42,19		30,04	23,57	22,68	22,45	86,09			40,10	0,00	0,91	0,57	0,00	0,23	0,34	
6	5+5	64,66	63,28		25,78		16,26	28,68				39,73	0,29	0,45	0,92	0,76	0,00	0,48	
7	4+5	64,66			27,25		107,07	64,66				65,91	0,33	0,45	0,92	0,00	0,38	0,42	
8	3+5	63,00			25,78		100,52					63,10	0,21	0,15	0,00	0,00	0,15	0,10	
9	2+5				27,22		71,96					49,59	3,27	2,17	0,82	0,00	0,39	1,33	
10	2+5				22,46		57,06					39,76	5,42	0,00	7,24	0,00	4,19	3,37	
11	1+0						47,00					47,00	—	—	—	—	—	—	
12	0+0												—	—	—	—	—	—	
13	0+0												—	—	—	—	—	—	
14	0+0												—	—	—	—	—	—	
15	0+1												5,43	—	—	—	—	—	5,43
16	0+0												—	—	—	—	—	—	
17	0+0												—	—	—	—	—	—	
18	0+0												—	—	—	—	—	—	
19	0+1												4,66	—	—	—	—	—	4,66
20	0+0												—	—	—	—	—	—	
21	0+3												4,88	—	5,77	—	0,44	3,70	

Tab. 6 Testung hämolysierender Antikörper beim E.H. – mit **HRBC** immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Versuchshunde die Antikörperwerte gegen **SRBC** in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm² während des gesamten Versuches. Bei der 2. OP erhält der Hund seine an den mit SRBC immunisierten Partner ausgeliehene Milz zurück. Die mit * bezeichneten Tiere kamen nicht zur Retransplantation und hatten keinen Kontakt mit SRBC.

y = arithmetisches Mittel der Nettodiffusionsflächen

n = Fallzahlen, X = Exitus des Tieres, - = keine Serumabnahme

→ = erster Kontakt der retransplantierten Tiere mit SRBC.

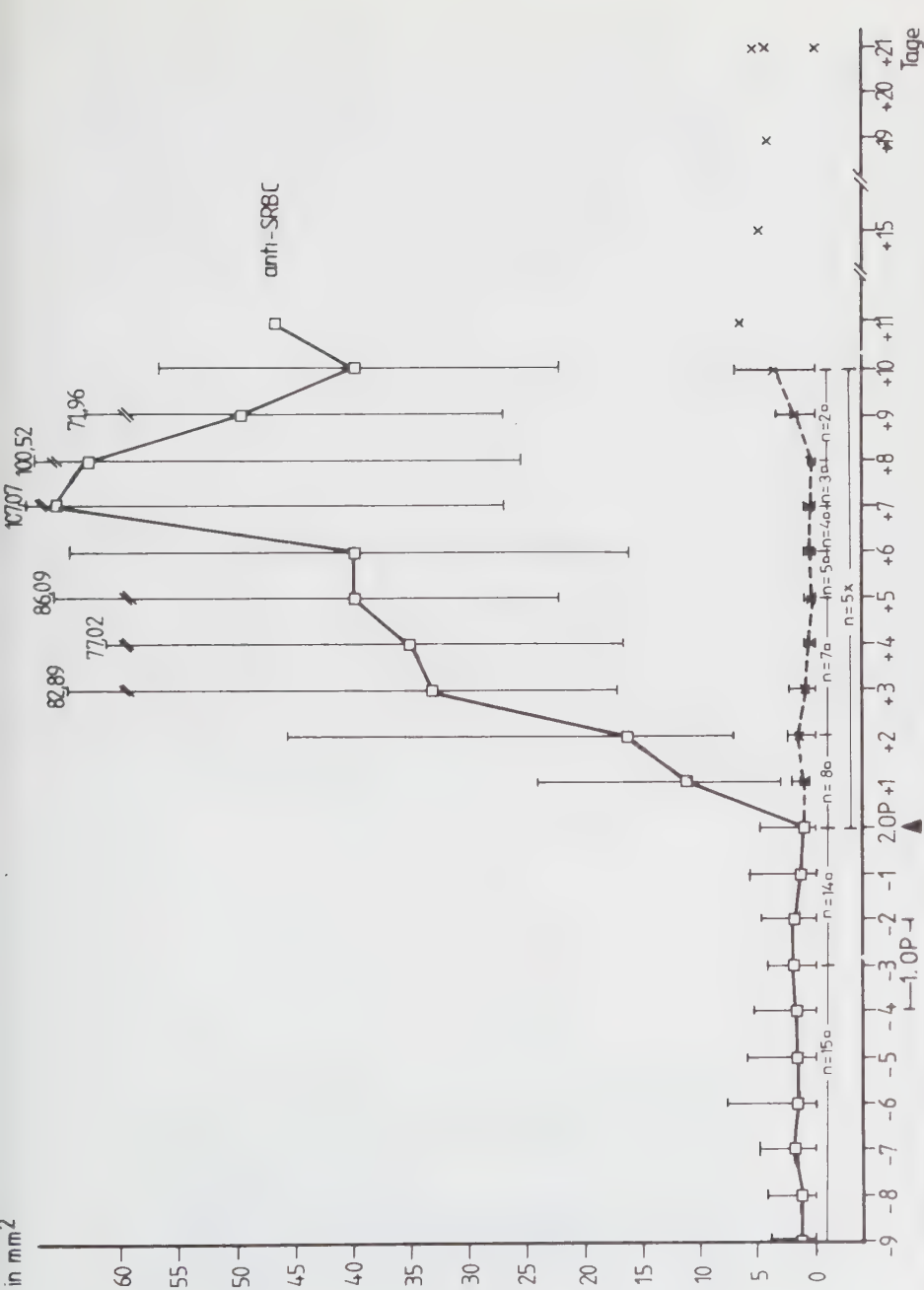


Abb. 12 Bildung und Übertragung hamolisierender Antikörper beim E.H. mit HRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Antikörperwerte in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm² gegen SRBC während des Versuches. Der Pfeil kennzeichnet die Retransplantation der Milz und die Übernahme von anti-SRBC des S.H.

Abb. 11 zeigt die Zunahme der hämolysierenden Antikörper im Serum des E.H. Es entwickelt sich nach den drei Immunisierungen zunächst ein stetiger Anstieg der gegen HRBC gerichteten Antikörper. Ein leichter Abfall nach den beiden Operationen ist hämodilutionsbedingt. Für die Immunisierungen und den Zeitpunkt der ersten Operation sind hier gewisse Bereiche eingezeichnet, um der Tatsache Rechnung zu tragen, daß die Abstände zwischen den beiden Transplantationen zwischen 2 und 4 Tagen betrugen. Durch die Splenektomie ist kein eklatanter Abfall der Antikörperwerte zu erkennen, jedoch findet auch keine Erhöhung des Antikörperspiegels mehr statt. Mit in dieser Kurve aufgenommen sind auch die Werte jener Tiere, welche nicht mehr zur Retransplantation kamen, da der S.H. vorzeitig verstarb. Die Einzelwerte ganz rechts zeigen später gemessene Antikörperwerte einiger dieser Hunde.

In Abb. 12 ist der Verlauf der Antikörperwerte nach Übertragung hämolysierender Antikörper bildender Zellen, welche gegen SRBC gerichtet sind dargestellt. Der E.H. wird bei der ersten Operation splenektomiert, seine Milz wurde für einige Zeit dem S.H. entliehen, bei der zweiten Operation bekommt er diese, seine Milz zurück. Ab diesem Zeitpunkt ist ein sprunghafter Antikörperanstieg, welcher gegen das ursprüngliche Antigen, also SRBC gerichtet ist, zu beobachten. Die Werte sind sogar höher als die für HRBC gemessenen. Hunde mit weniger gut perfundierten Milzen lagen im unteren Bereich der Abweichungen, Hunde mit gut perfundierten dagegen im oberen Bereich. Mit der Retransplantation der Milz findet somit eindeutig eine Übertragung Antikörper bildender Zellen statt, gegen deren Antigen der S.H. vorimmunisiert war. Der Abfall der Antikörperwerte zwischen dem 7. und 11. Tag nach der zweiten Operation darf aufgrund der geringen Fallzahlen sowie der häufigen Infusionen nicht als signifikant bezeichnet werden. Die untere gestrichelte Linie faßt Hunde zusammen, die nicht mehr zur Retransplantation ihrer eigenen Milz kamen, da der S.H. nach der ersten Operation verstarb.

Tab. 7 a (anti-HRBC)

Tag	Hund I	Hund II	Hund VI	$\bar{x}$ $\bar{y}$
0	2,48 0,24	4,00 1,02	6,74 0,00	4,41 0,42
2	3,85 0,53	3,56 0,84	6,74 1,04	4,72 0,80
4	2,89 1,02	4,00 1,61	0,00 0,00	2,30 0,88
6	2,41 1,51	5,15 3,06	0,00 1,10	2,52 1,89
8	7,30 1,02	7,76 1,06	0,00 1,88	5,02 1,32
10	14,70 2,54	28,26 1,02	24,99 0,66	22,65 1,41
13	10,07 2,04	30,55 3,77	29,10 3,77	23,24 3,19
15	11,00 1,02	30,80 4,19	28,91 0,51	23,57 1,91
17	11,63 0,36	26,74 0,76	16,79 0,46	18,39 0,53
19	7,85 2,02	23,85 1,51	16,75 0,51	16,15 1,35

Tab. 7 b (anti-SRBC)

Tag	Hund III	Hund IV	Hund V	$\bar{x}$ $\bar{y}$
0	0,00 0,31	0,61 0,31	0,00 3,56	0,20 1,39
2	0,00 0,24	0,00 2,56	0,00 0,73	0,00 1,18
4	4,57 3,29	0,00 6,44	0,00 3,56	1,52 4,43
6	4,55 3,31	13,19 3,56	20,26 2,89	12,67 3,25
8	11,45 1,98	19,46 2,78	27,03 1,74	19,31 2,17
10	13,21 1,37	21,18 2,31	25,05 0,74	19,81 1,47
13	25,79 2,18	26,06 8,79	27,12 6,74	26,32 5,90
15	14,18 1,38	19,18 1,28	20,82 3,74	18,06 2,13
17	14,18 0,62	17,38 11,79	21,45 0,27	17,67 4,23
19	15,49 5,95	8,51 5,43	19,12 5,60	14,37 5,66

Tab. 7 Testung hämolysierender Antikörper bei splenektomierten Kontrollhunden (n = 6).

Die Hunde in Tab. 7a sind mit HRBC immunisiert

x = Nettodiffusionsfläche in mm² der Antikörper gegen HRBC

y = Nettodiffusionsfläche in mm² der Antikörper gegen SRBC

→ = Tage der Immunisierung

Die Hunde in Tab. 7b sind mit SRBC immunisiert

x = Nettodiffusionsfläche in mm² der Antikörper gegen SRBC

y = Nettodiffusionsfläche in mm² der Antikörper gegen HRBC

→ = Tage der Immunisierung

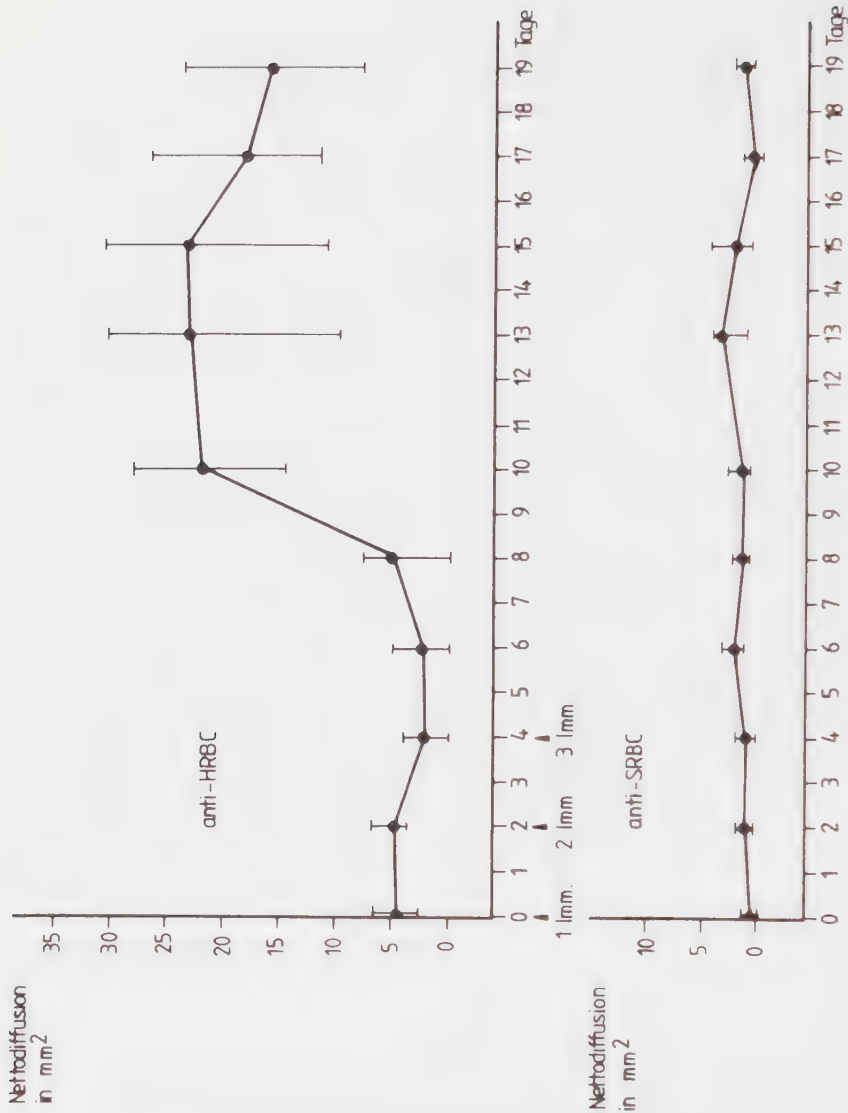


Abb. 13 Bildung hämolysierender Antikörper bei splenektomierten Kontrollhunden mit HRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Antikörperwerte in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm² gegen HRBC (oben) und SRBC (unten). Die Zeiten der Immunisierungen sind durch Pfeile gekennzeichnet, n = Fallzahl = 3.

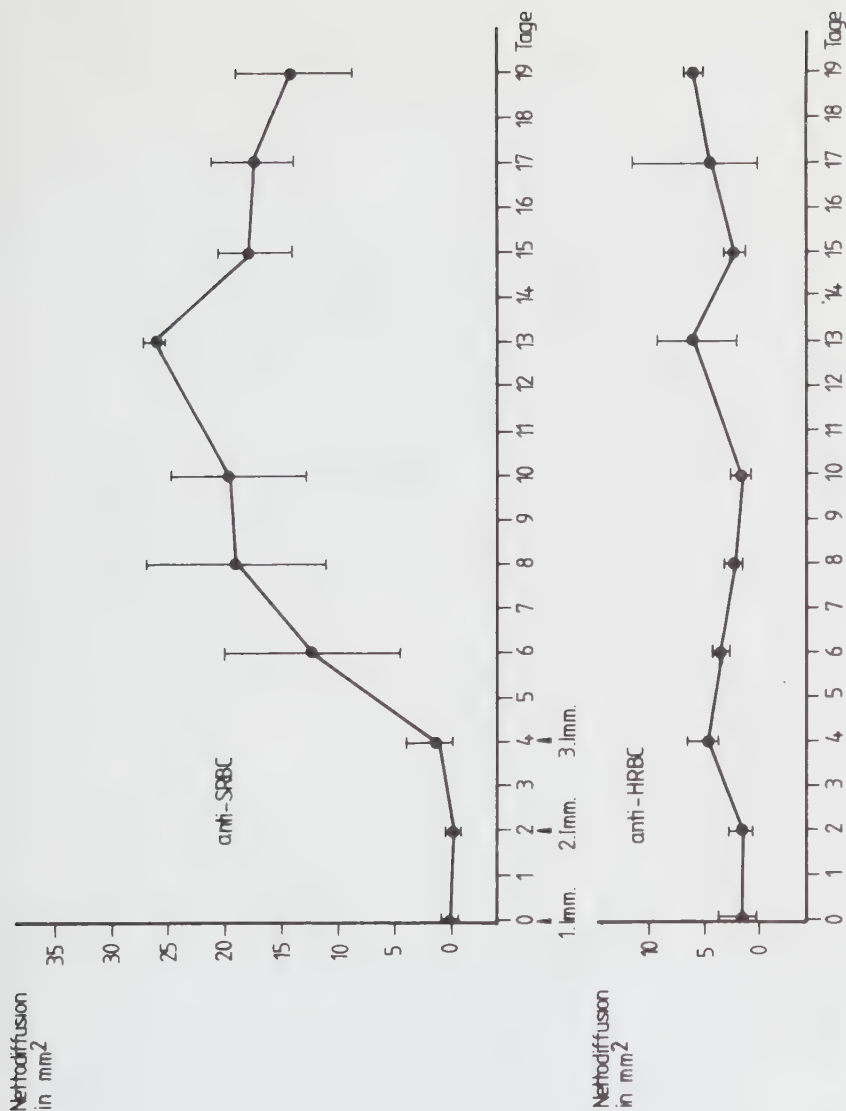


Abb. 14 Bildung hämolysierender Antikörper bei splenektomierten Kontrollhunden – mit SRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Antikörperwerte in der Benennung „Nettodiffusionsfläche“ in mm^2 gegen SRBC (oben) und HRBC (unten). Die Zeiten der Immunisierungen sind durch Pfeile gekennzeichnet. $n = \text{Fallzahl} = 3$.

Tag	n	109	119	106	000	162	165	176	187	192	237	228	253	265	266	409	$\bar{x}$
-10	15	4	2	2	4	2	4	4	4	2	2	2	2	2	2	4	1,40
9	15	4	2	8	8	4	4	2	4	4	2	4	8	8	8	8	2,20
8	15	4	4	8	8	8	8	8	8	8	2	4	2	2	8	4	2,33
7	15	2	16	2	4	2	2	2	4	4	2	8	2	2	2	8	1,66
6	15	4	32	2	64	2	8	4	8	128	32	64	2	64	4	16	3,40
5	15	32	64	256	64	4	8	16	32	16	4	128	2	4	16	32	4,50
4	15	64	128	4	16	8	8	8	32	16	32	128	16	32	4	64	4,50
3	15	64	256	32	8	16	32	8	64	16	8	256	8	64	8	128	4,93
2	15	512	256	16	8	8	32	32	64	16	16	256	16	64	8	512	5,13
-1	15	64	256	32	32	32	32	32	64	32	32	128	16	32	8	256	5,30
1. OP	15	2048	512	256	16	512	128	128	2048	256	256	256	32	512	8	4096	7,88
1	14	512	128	32	8	512	☒	16	512	8	1024	32	8	512	2048	128	6,71
2	13	512	512	64	64	64	☒	128	1024	32	☒	128	32	512	256	1024	7,46
3	7	☒	512	☒	☒	☒	☒	128	2048	16	☒	128	32	1024	☒	☒	7,57
4	4	☒	1024	☒	☒	☒	☒	512	☒	128	☒	256	☒	☒	☒	☒	8,50
5	0	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	-

Tab. 8

Testung hämagglutinierender Antikörper beim S.H. -- mit SRBC immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Versuchshunde die Hämagglutininiter in Verdünnungsstufen 1 : . . . der Antikörper gegen SRBC bis zur 2. Operation.

x = Arithmetische Mittelwerte der nat. Logarithmen der Verd. Stufen
n = Fallzahlen

X = Exitus des Versuchstieres

Tag	n	109	119	106	000	162	165	176	187	192	237	228	253	265	266	409	$\bar{x}$
-10	15	4	2	2	4	2	4	4	4	2	2	2	2	2	2	4	1,40
- 9	15	4	2	8	8	4	4	2	4	4	2	4	8	8	8	8	2,20
- 8	15	4	4	8	8	8	8	8	8	8	2	4	2	2	2	4	2,33
- 7	15	2	16	2	4	2	2	2	4	4	2	8	2	2	2	8	1,66
- 6	15	4	32	2	64	2	8	4	8	128	32	64	2	64	4	16	3,40
- 5	15	32	64	256	64	4	8	16	32	16	4	128	2	4	16	32	4,50
- 4	15	64	128	4	16	8	8	8	32	16	32	128	16	32	4	64	4,50
- 3	15	64	256	32	8	16	32	8	64	16	8	256	8	64	8	128	4,93
- 2	15	512	256	16	8	8	32	32	64	16	16	256	16	64	8	512	5,13
- 1	15	64	256	32	32	32	32	32	64	32	32	128	16	32	8	256	5,30
1.OP	15	2048	512	256	16	512	128	128	2048	256	256	256	32	512	8	4096	7,88
1	14	512	128	32	8	512	$\times$	16	512	8	1024	32	8	512	2048	128	6,71
2	13	512	512	64	64	64	$\times$	128	1024	32	$\times$	128	32	512	256	1024	7,46
3	7	$\times$	512	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	128	2048	16	$\times$	128	32	1024	$\times$	$\times$	7,57
4	4	$\times$	1024	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	512	$\times$	128	$\times$	256	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	8,50
5	0	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	$\times$	-

Tab. 8 Testung hämagglutinierender Antikörper beim S.H. - mit **SRBC** immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Versuchshunde die Hämagglutininiter in Verdünnungsstufen 1 . . . , der Antikörper gegen **SRBC** bis zur 2. Operation.

x = Arithmetische Mittelwerte der nat. Logarithmen der Verd. Stufen

n = Fallzahlen

X= Exitus des Versuchstieres

- = keine Serumabnahme

->= Tage der Immunisierung mit **SRBC**

Tag	n	109	119	106	000	162	165	176	187	192	237	228	253	265	266	409	$\bar{y}$
-10	15	2	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	1,73
-9	15	2	2	4	4	4	2	2	2	4	4	2	4	2	2	4	1,46
-8	15	2	2	4	4	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,20
-7	15	4	4	2	4	8	2	8	4	8	4	2	4	4	2	4	2,00
-6	15	4	2	2	2	2	2	4	4	2	4	2	2	2	2	2	1,26
-5	15	2	4	2	2	8	2	2	4	2	2	8	2	2	2	4	1,46
-4	15	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	2	2	1,13
-3	15	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2	1,13
-2	15	4	2	2	2	2	2	2	8	2	8	4	4	2	2	2	1,46
-1	15	2	4	2	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	2	1,13
I.OP	15	4	8	2	2	4	2	2	4	8	2	8	4	4	4	4	1,86
1	14	16	64	8	8	8		4	16	16	2	32	4	4	32	32	3,50
2	13	128	256	8	32	8		8	32	32		1024	8	8	4096	128	5,77
3	7		1024					8	64	64		4096	16	32			6,57
4	4		4096					32		512		4096					9,50
5	0																-

Tab. 9

Testung hämaggutinerender Antikörper beim S.H. mit SRBC immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Versuchshunde die Hämagglutinititer in Verdünnungsstufen 1 : ... der Antikörper gegen HRBC bis zur 2. Operation. Bei der ersten Operation erhält der Hund die Milz des mit HRBC immunisierten Tieres.

y = arithmetische Mittelwerte der nat. Logarithmen der Verd.Stufen

n = Fallzahlen

X = Exitus des Tieres

- = keine Serumabnahme

-> = erstmaliger Kontakt mit anti-HRBC

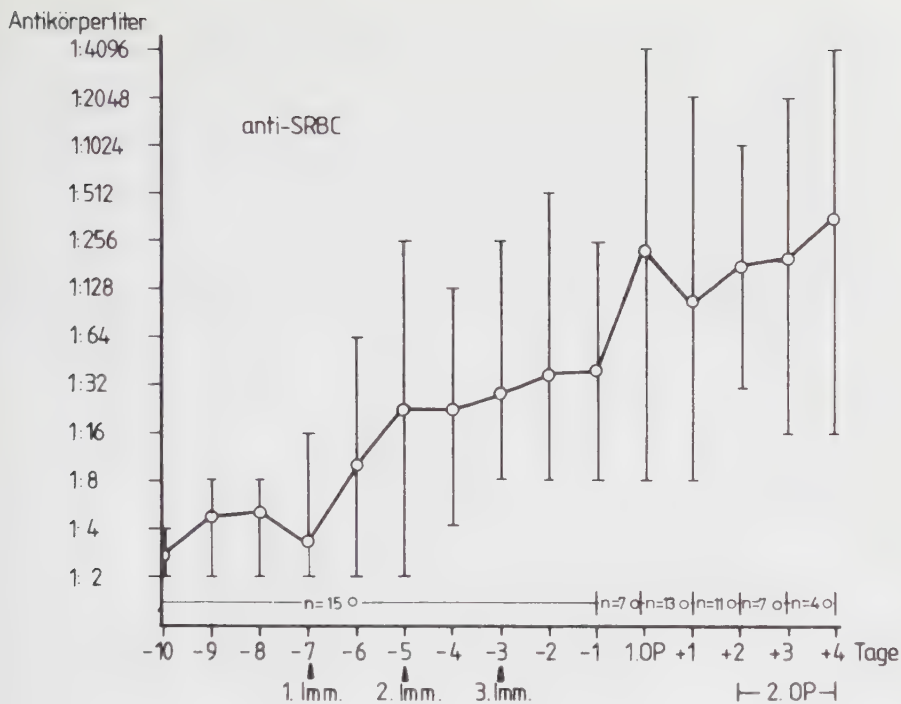


Abb. 15 Bildung hämagglutinierender Antikörper beim S.H. – mit SRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der nat. Logarithmen der Antikörpertiter gegen SRBC bis zur zweiten Operation. Die Zeiten der Immunisierungen mit SRBC sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die Abweichungen in der Kurve sind Minimum-Maximumangaben.
n = Fallzahlen

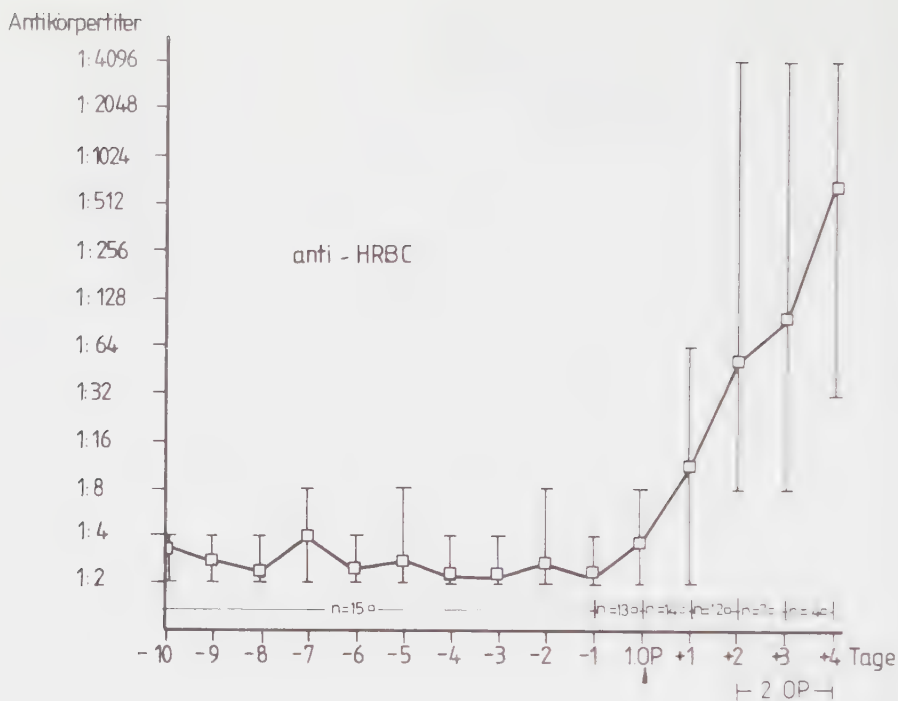


Abb. 16 Bildung und Übertragung hämagglutinierender Antikörper beim S.H. – mit **SRBC** immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der nat. Logarithmen der Antikörpertiter gegen **HRBC** bis zur zweiten Operation. Der Pfeil kennzeichnet den Zeitpunkt der Milztransplantation und damit den erstmaligen Kontakt des Tieres mit anti-HRBC. Die Abweichungen in der Kurve sind Minimum-Maximumangaben. n = Fallzahlen

In Abb. 15, Bildung hämagglutinierender Antikörper beim S.H. zeigt sich, daß die Reaktion des Hundes auf das xenogene Antigen (SRBC) ähnlich verläuft, wie es bereits bei den hämolysierenden Antikörpern zu sehen war. Auch hier zeigt sich ein zunehmender Anstieg der gegen SRBC gerichteten Antikörper nach den Immunisierungen. Jedoch verläuft die Kurve nach der ersten Operation etwas flacher.

In Abb. 16 der gegen HRBC gerichteten hämagglutinierenden Antikörper zeigt sich bis zum Zeitpunkt der ersten Operation ein Verlauf nahe der Titerstufe 1:4. Nach der allogenen Milztransplantation entwickelt der Hund in steigendem Maße einen Antikörpertiter gegen HRBC. Je länger die Verweildauer des Milztransplantates ist, desto höher steigt der Antikörpertiter gegen HRBC im Serum des S.H. Dies war auch bei Hund 409 festzustellen, äquivalent zur Bildung hämolysierender Antikörper.

Tag	n	97	100	105	156*	158*	168*	178*	184	195	221*	236	254	261	263	414	$\bar{x}$
-10																	
- 9	14	4	2	2	2	2	2	4	2	2	2	8	8		2	4	1,5
- 8	15	2	8	2	8	4	4	8	8	2	4	8	8	2	4	32	2,33
- 7	15	8	16	2	16	8	8	32	32	2	8	32	32	2	8	256	3,60
- 6	14	32	32	2	32	4	8	32	256		8	128	128	4	4	512	4,57
- 5	14	128	64	2	64	-	16	64	1024	32	16	512	1024	8	4	2048	6,00
- 4	15	256	128	8	128	128	64	128	2048	64	64	1024	1024	64	16	4096	7,33
- 3	14	512	256	32	-	512	128	256	4096	128	128	1024	1024	64	64	4096	8,29
- 2	14	1024	1024	32	512	1024	256	256	4096	128	128	2048	2048	32	64		8,50
- 1	14	1024	2048	64	1024	2048	1024	1024	4096	128	256	4096	4096	64	128		9,46
2.OP	14	2048	4096	64	2048	4096	1024	1024	4096	256	512	4096	4096	128	256		10,00
1	13	256	1024	X	4096	2048	64	64	256	64	64	512	512	64	128		8,00
2	13	1024	1024		4096	4096	512	512	1024	256	256	2048	2048	256	512		9,77
3	12	1024	1024		4096	4096	256	512	2048	128	256	4096	4096	128	X		9,83
4	12	4096	4096		2048	4096	2048	4096	4096	128	2048	4096	4096	256			11,00
5	12	4096	4096		2048	4096	1024	4096	4096	128	512	4096	4096	256			10,75
6	10	2048	1024		2048	2048	256	2048	4096	X	128	4096	4096	X			10,50
7	9	2048	X		512	256	128	1024	4096		128	4096	4096				9,70
8	8	256			128	128	64	128	256		16	512	X				7,00
9	7	X			128	64	32	256	512		16	1024					7,00
10	7				64	16	32	1024	32		32	128					6,00
11	1				-	-	-	-	X		-	32					5,00
12	0				-	-	-	-			-	X					-
13	0				-	-	-	-			-						-
14	0				-	-	-	-			-						-
15	2				16	32	-	-			-						4,50
16	0				-	-	-	-			-						-
17	0				-	-	-	-			-						-
18	0				-	-	-	-			-						-
19	1				16	-	-	-			-						4,00
20	1				8	-	-	-			-						3,00
21	3				2	-	2	-			2						1,00

Tab. 10 Testung hämagglutinierender Antikörper beim E.H. – mit HRBC immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Hunde die Hämagglutinititer in Verdünnungsstufen 1: . . . der Antikörper gegen HRBC während des gesamten Versuches. Mit * bezeichnete Tiere kamen nicht zur 2. OP.

x = arithmetisches Mittel der nat. Logarithmen der Verd.-Stufen

n = Fallzahlen, X = Exitus des Tieres, - = keine Serumabnahme

Tag	n ₁ n ₂	97	100	105	184	195	236	254	261	263	414	$\bar{y}$	156*	158*	168*	178*	221*	$\bar{y}_{ges.}$	$\bar{y}^*$
10																			
9	15	2	2	2	4	2	4	2	2	2	4		2	4	2	4	2	1,33	
8	15	2	4	2	2	2	2	2	2	2	2			2	4	4	4	1,29	
7	15	2	4	2	2	2	4	2	4	2	4			2	4	2	4	1,40	
6	15	2	4	4	2	4	2	2	4	4	2		2	2	2	2	2	1,40	
5	15	4	2	2	4	2	4	8	2	2	2		4	2	2	2	2	1,40	
4	15	2	2	4	2	2	2	2	2	4	2		2	4	2	2	4	1,26	
3	15	2	2	2	2	4	4	2	2	2	2		2	2	4	2	2	1,20	
2	14	2	4	2	2	2	2	4	2	2	X		4	2	2	2	2	1,20	
1	14	4	2	2	8	2	8	2	2	4			2	4	2	4	2	1,60	
2.OP	14	2	2	4	4	2	2	16	2	2			4	8	2	2	2	1,60	
1	8+5	8	16	X	16	8	16	16	8	8		3,50	8	4	4	4	4		2,20
2	8+5	16	256		32	256	63	32	1024	8		6,13	4	8	8	8	4		2,60
3	7+5	32	1024		64	128	128	128	512	X		7,29	16	8	8	8	8		3,00
4	7+5	64	1024		128	32	128	128	512			7,29	8	8	8	32	16		3,60
5	7+5	128	2048		256	128	512	128	128			8,00	16	32	32	16	16		4,40
6	5+5	256	128		512	X	1024	256	X			8,40	16	32	16	32	16		4,40
7	4+5	256	X		2048		2048	1024				10,00	32	32	16	16	32		4,60
8	3+5	2048			4096		2048	X				11,00	32	32	16	16	16		4,40
9	2+5	X			4096		1024					11,50	32	16	16	8	8		3,80
10	2+5				4096		256					10,00	16	32	32	16	8		4,20
11	1+0				X		32					5,00	—	—	—	—	—		—
12	0+0						X						—	—	—	—	—		—
13	0+0												—	—	—	—	—		—
14	0+0												—	—	—	—	—		—
15	0+1												8	4	—	—	—		2,50
16	0+0												—	—	—	—	—		—
17	0+0												—	—	—	—	—		—
18	0+0												—	—	—	—	—		—
19	0+1												8	—	—	—	—		3,00
20	0+1												8	—	—	—	—		3,00
21	0+3												4	—	4	—	8		2,30

Tab. 11 Testung hämagglutinierender Antikörper beim E.H. — mit HRBC immunisiert. Aufgezeigt sind unter den Nummern der Hunde die Hämagglutinititer in Verdünnungsstufen 1: . . . der Antikörper gegen SRBC während des gesamten Versuches. Bei der zweiten OP erhält der Hund seine an den mit SRBC immunisierten Partner ausgeliehene Milz zurück. Die mit * bezeichneten Tiere kamen nicht zur Retransplantation und hatten keinen Kontakt mit SRBC.

y = arithmetisches Mittel der nat. Logarithmen der Verd.-Stufen
n = Fallzahlen, X = Exitus des Tieres, — = keine Serumabnahme.

⇒ erster Kontakt der retransplantierten Tiere mit SRBC.

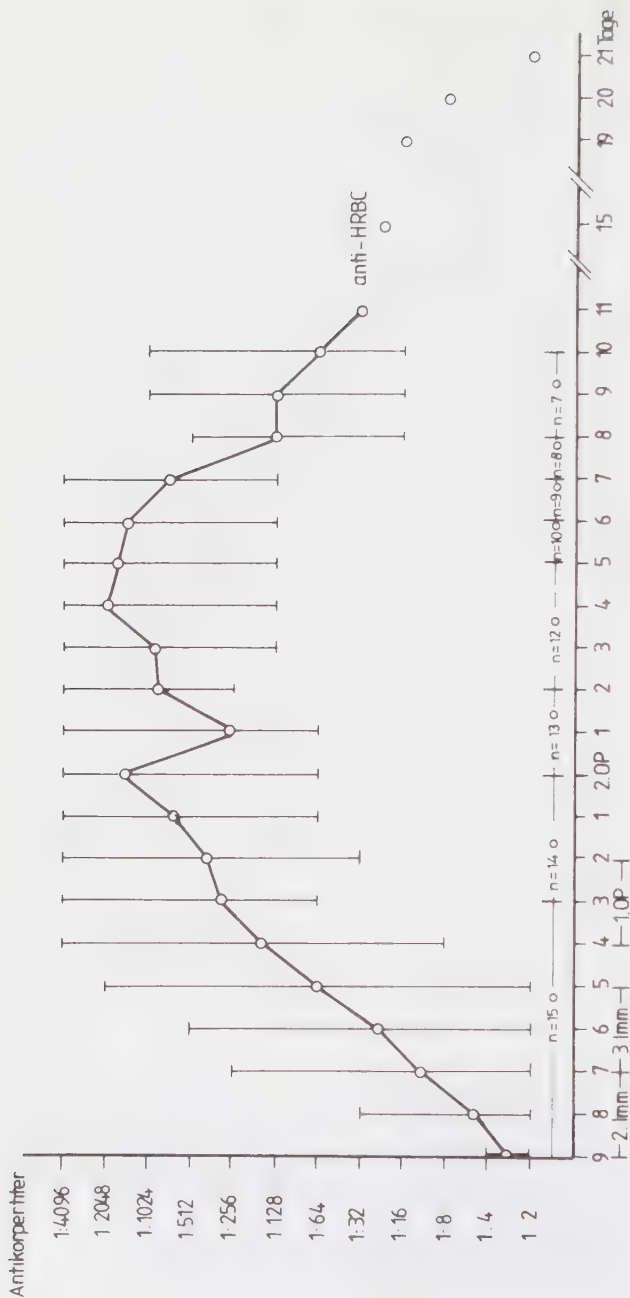


Abb. 17 Bildung hämagglutinierender Antikörper beim L.H. mit HRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Hämagglutinititer in Verdünnungsstufen 1: . . . gegen HRBC während des gesamten Versuches. Für Immunisierungen und 1. OP sind Bereiche eingezeichnet. Die Abweichungen in der Kurve sind Minimum-Maximumangaben.
o = Einzelwerte von Hunden die nicht zur 2. OP kamen, n = Fallzahlen.

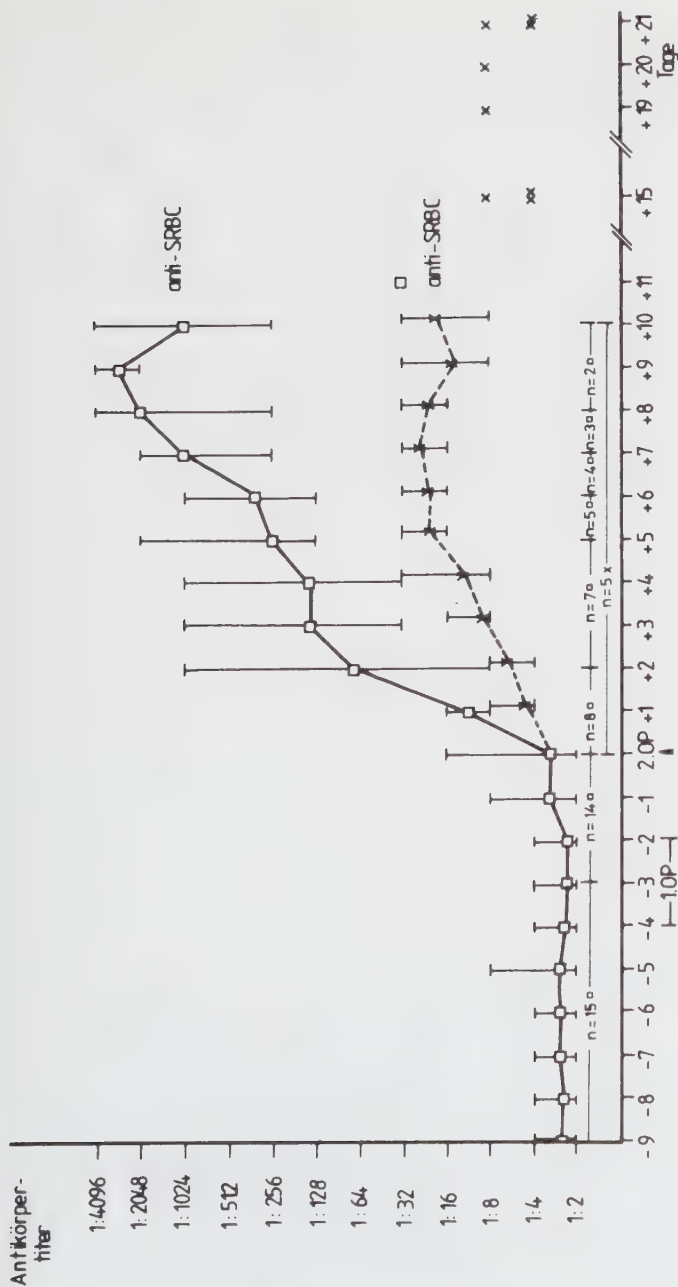


Abb. 18 Bildung und Übertragung hämmagglutinierender Antikörper beim E.H. — mit HRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Hämmagglutinititer gegen SRBC in Verdünnungsstufen 1 : . . . während des gesamten Versuches. Der Pfeil kennzeichnet den Zeitpunkt der Retransplantation der Milz und die Übernahme von anti-SRBC des S.H.
x = Einzelwerte von Hunden die nicht zur 2. OP kamen, n = Fallzahlen

Abb. 17 zeigt die Bildung der hämagglutinierenden Antikörper beim E.H. und einen stetigen Anstieg des Antikörpertiters gegen HRBC im Anschluß an die drei Immunisierungen. Ein hämodilutionsbedingter Abfall nach der ersten Operation war hier nicht festzustellen. Nach der Retransplantation jedoch ist der Abfall deutlich. Bis hin zum 11. postoperativen Tag ist nach erneutem Anstieg des Titers ein stetiger Abfall erkennbar, wobei jedoch die Ausgangswerte nicht mehr erreicht werden.

Abb. 18 zeigt den Verlauf der Bildung und Übertragung von Antikörper bildenden Zellen, deren Aktivität gegen SRBC gerichtet ist. Auch hier läßt sich eine Übereinstimmung mit den hämolysierenden Antikörpern finden. Nach der Retransplantation erfolgt ein sprunghafter Titeranstieg, welcher ebenfalls eklatant höher ist als der für HRBC gemessene. Mit der Retransplantation der Milz findet somit auch eindeutig eine Übertragung Antikörper bildender Zellen mit Entwicklung von hämagglutinierenden Antikörpern statt, mit deren Antigen der S.H. immunisiert war. Bei den Hunden, die nur die erste Operation durchliefen, war ein leichter Titeranstieg der hämagglutinierenden Antikörper zu verzeichnen, was möglicherweise auf eine unspezifische postoperative Reaktion zurückzuführen ist. Bei der Bildung hämolysierender Antikörper war dies nicht zu beobachten.

Tab. 12a (anti-HRBC)

Tab. 12b (anti-SRBC)

Tag	Hund I	Hund II	Hund VI	$\bar{x}$ $\bar{y}$
0	4 2	4 2	4 2	2,00 1,00
2	4 2	8 4	4 2	2,33 1,33
4	4 2	8 2	4 2	2,33 1,00
6	4096 2	4096 2	4096 2	12,00 1,00
8	4096 4	4096 2	4096 2	12,00 1,33
10	4096 2	4096 2	4096 4	12,00 1,33
13	4096 2	4096 2	4096 2	12,00 1,00
15	4096 2	4096 2	4096 2	12,00 1,00
17	4096 4	4096 4	4096 2	12,00 1,67
19	4096 2	4096 2	4096 2	12,00 1,00

Tag	Hund III	Hund IV	Hund V	$\bar{x}$ $\bar{y}$
0	8 2	16 4	8 4	3,33 1,67
2	8 2	16 2	8 4	3,33 1,33
4	32 2	16 2	16 2	4,33 1,00
6	32 2	16 2	16 4	4,33 1,33
8	64 4	64 2	32 2	5,67 1,33
10	128 2	64 2	128 4	6,67 1,33
13	128 4	65 2	256 4	7,00 1,67
15	128 2	128 2	256 2	7,33 1,00
17	128 2	128 2	256 2	7,33 1,00
19	128 4	128 2	256 2	7,33 1,33

Tab. 12 Testung hämagglutinierender Antikörper bei splenektomierten Kontrollhunden (n = 6).

Die Hunde in Tab. 12a sind mit HRBC immunisiert

x = arithmetisches Mittel des nat. Logarithmus des Hämtiters in Verdünnungsstufen
1: ... der Antikörper gegen HRBCy = arithmetisches Mittel des nat. Logarithmus des Hämtiters in Verdünnungsstufen
1: ... der Antikörper gegen SRBC

→ Tage der Immunisierung

Die Hunde in Tab. 12b sind mit SRBC immunisiert

x = arithmetisches Mittel des nat. Logarithmus des Hämtiters in Verdünnungsstufen
1: ... der Antikörper gegen SRBCy = arithmetisches Mittel des nat. Logarithmus des Hämtiters in Verdünnungsstufen
1: ... der Antikörper gegen HRBC

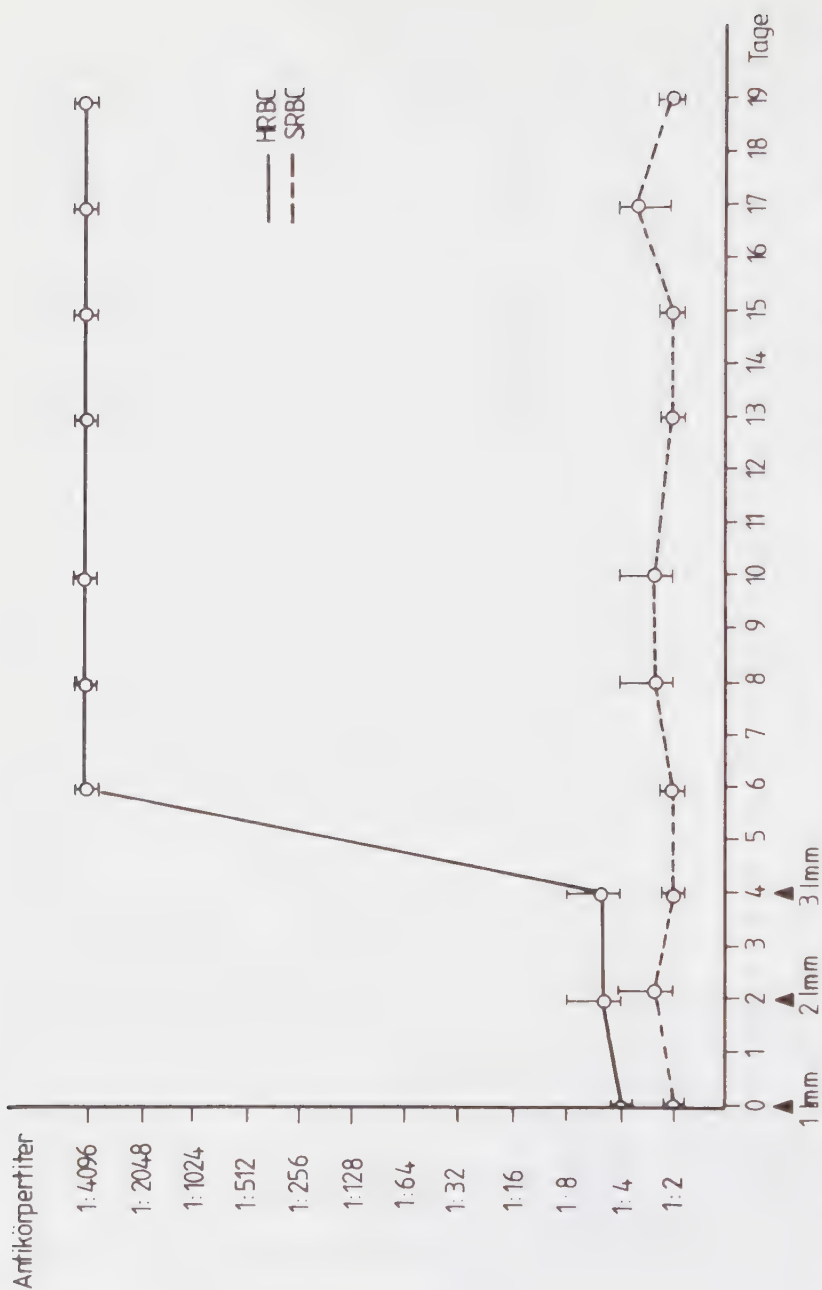


Abb. 19 Bildung hämagglutinierender Antikörper bei splenektomierten Kontrollhunden mit HRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Hämagglutinititer in Verdünnungsstufen 1:2 bis 1:4096 gegen HRBC (—) und gegen SRBC (---). Die Zeiten der Immunisierung sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die Abweichungen in der Kurve sind Minimum-Maximumangaben. n = Fallzahl = 3.

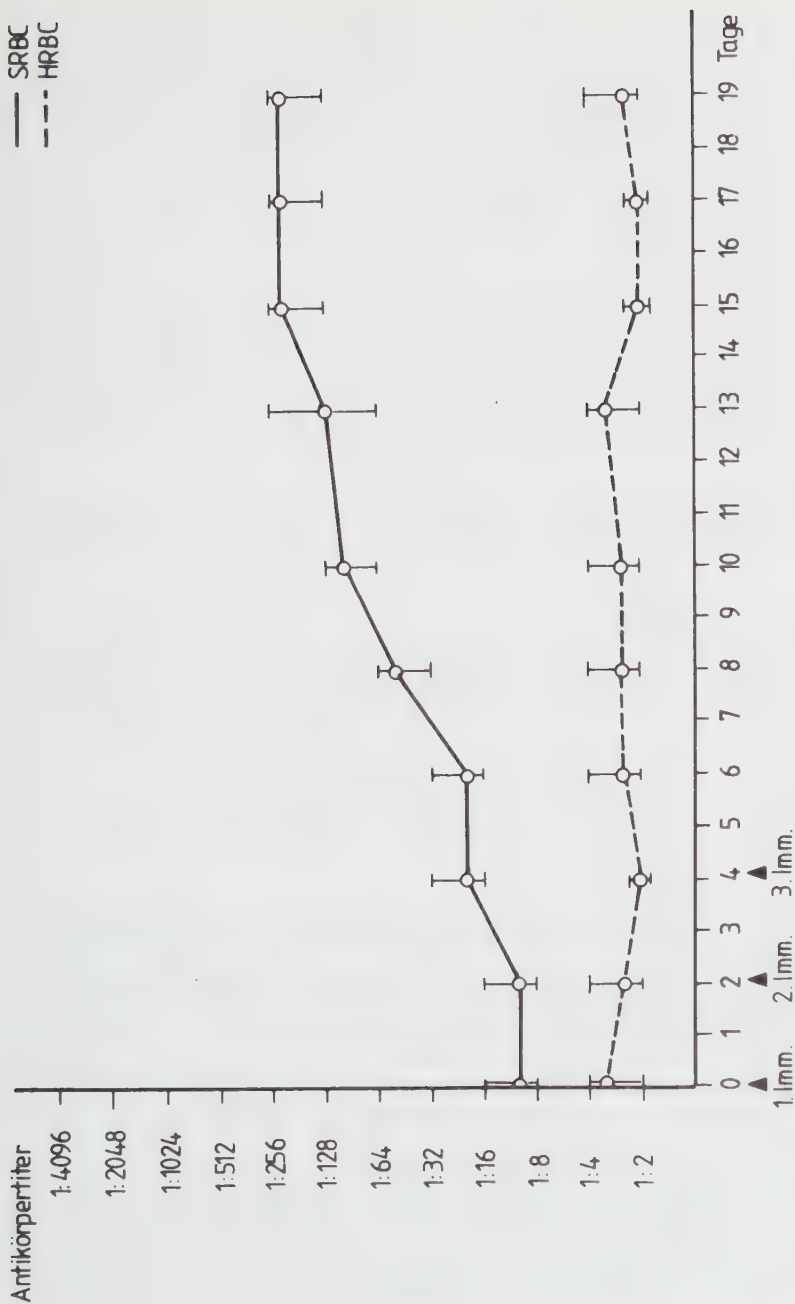


Abb. 20 Bildung hämagglutinierender Antikörper bei splenektomierten Kontrollhunden - mit SRBC immunisiert. Aufgezeigt sind die arithmetischen Mittel der Hämagglutinititer in Verdünnungsstufen 1: ... gegen SRBC (—) und gegen HRBC (---). Die Zeiten der Immunisierungen sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die Abweichungen $n = 3$.

Die Abb. 19 und 20 zeigen die Produktion hämagglutinierender Antikörper bei den 6 splenektomierten Kontrollhunden. Abweichend von der Bildung hämolysierender Antikörper erkennt man, daß der Titeranstieg gegen HRBC plötzlich und sehr stark erfolgt, der gegen SRBC jedoch langsam und flach. Auch wird die HRBC-Titerstufe niemals erreicht. Der Grund dafür dürfte in den unterschiedlichen Antigenizitäten der verwendeten Antigene zu suchen sein. Ein Abfall des Titers nach dem 13. Tag nach den Immunisierungen, wie bei den hämolysierenden Antikörpern, war nicht feststellbar.

d. DLA-Testung

In einer Kombination (S.H. 253—E.H. 254) konnte nach der Re-Transplantation der Milz beim E.H. ein vor der Transplantation nicht vorhandenes DLA-Antigen und zwar DLA-B4 nachgewiesen werden. DLA-B4 war ein Antigen des Spenderhundes 253, der das Muster DLA-A2, A9, B4, B6 hatte, während der Empfänger 254 DLA-A3, A9, B12 und nach Re-Transplantation DLA-A3, A9, B4, B12 aufwies.

Es wurden damit bei diesem einen Fall nachgewiesen, daß mit der Re-Transplantation der Milz ein Zelltransfer von Lymphozyten aus dem S.H. stattgefunden hat.

III. Operative Komplikationen

Seit **Alexis Carrell** (17, 18) im Jahr 1908 die erste experimentelle Milztransplantation am Hund durchführte, wurde dieses Experiment seither von verschiedenen Autoren unter den verschiedensten Fragestellungen immer wieder beschrieben. Dabei wurde die Milz sowohl orthotrop (also an die Milzgefäße) als auch heterotrop (an Iliacal- und Jugulargefäße) transplantiert. Fast ausnahmslos wird dieses Experiment in der Literatur als sehr komplikationsreich bezeichnet, mit einer Komplikationsrate von mehr als 50 % (26, 43, 46, 63).

Die Hauptkomplikationen sind:

- Thrombosierung der transplantierten Milzvene und Milzarterie an der Stelle ihrer Anastomosierungen.
- Akute nekrotisierende Pankreatitis des E.H. nach der Explantation der Milz.
- Narkosekomplikationen (siehe C. IV.)
- Dünndarminvaginationen (siehe C. IV.)

Auch bei den in dieser Versuchsreihe durchgeführten Experimenten kamen die erwähnten Komplikationen in einer Häufigkeit von circa 70 % anfangs vor (siehe C. I. c.).

Bei den ersten 12 Versuchen kam es in 4 Fällen zu thrombotischen Verschlüssen der Lienalgefäße, insbesondere der Vena lienalis an der Stelle der End- zu End-Anastomosen. Die anfängliche Thromboseprophylaxe bestand lediglich aus der intra- und postoperativen Gabe von 250 ml Makrodex 6 % täglich. Trotzdem traten die Thrombosen auf. Bei den folgenden Versuchen wurde der S.H. nach der Milztrans-

plantation heparinisiert und zusätzlich mit Dihydergot behandelt, ebenso der E.H. nach erfolgter Retransplantation (siehe B. II. c. 5., 7.). Dies erfolgte in Anlehnung an die Arbeiten von **Pabst** und **Maurer** (54). Nur in einem einzigen Fall kam es noch zu einer beginnenden Thrombose der Vena lienalis, weil nach Blutungskomplikationen am 2. postoperativen Tag die Heparinisierung abgesetzt werden mußte. Erkauft wurde die Heparinisierung und damit die Thromboseverhinderung allerdings mit einer erhöhten Komplikationsrate letaler Volumenverluste. Bei 3 dieser Fälle wurde noch am Operationstag mit der Heparinisierung begonnen, in deren Folge es zu letalen Blutungen kam, in einem Fall trat postoperativ eine Milzruptur ein.

Die zweite Hauptkomplikation, die akute nekrotisierende Pankreatitis trat beim E.H. bei den ersten 7 Experimenten in 3 Fällen auf, wobei 2 dieser Fälle über vitale Komplikationen ad exitum der Tiere führten. Nach Anwendung der bereits beschriebenen Pankreatitisprophylaxe (B. II, c. 2., 4.) kam es bei keinem der Tiere mehr zu der erwähnten Komplikation, eine großzügige Resektion der Cauda pancreatis war jedoch stets notwendig und entscheidend für den Erfolg. Die medikamentöse Prophylaxe erfolgte in Anlehnung an die Untersuchungen von **Trapnell** und **Rigly** (66).

Die sonstigen Komplikationen waren Fälle, in denen ein Scheitern des Versuches nicht auf die Versuchsanordnung zurückzuführen war (z. B. idiopathische Herzdilatation, praehepatischer Portalvenenstau nach Leberzirrhose).

Zu dieser Thematik läßt sich abschließend sagen, daß es möglich war, die auftretenden operativen Komplikationen von über 70 % auf unter 30 % bei der Transplantation der Hundemilz zu senken. Genaue Prozentzahlen sind aufgrund der nicht übergroßen Zahl von Versuchen und aufgrund der diffizilen Versuchsanordnung nicht möglich.

IV. Narkosekomplikationen

Die Mononarkose mit Barbituraten hat sich für die langdauernden Versuche als ungünstig erwiesen. Durch oftmaliges Nachdosieren von Pentobarbital kam es zu einer Kumulation des Narkotikums, zu dessen Anreicherung im Fettgewebe und damit zu einer unerwünschten Verlängerung der Narkosedauer. Zusätzlich kam es zu einem zeitweisen Aussetzen der Spontanatmung, was eine zusätzliche Beatmung erforderlich machte und das Versuchstier in eine O₂-Mangelsituation brachte. Die Belastung wird umso deutlicher, wenn man bedenkt, daß der E.H. innerhalb kurzer Zeit zwei langdauernde Operationen durchlaufen mußte.

Auch wurden in 3 von 14 Fällen massive Dünndarminvaginationen postoperativ beobachtet. Aus der Literatur ist bekannt, daß Barbiturate im Einleitungsstadium die Darmmotilität erhöhen, während der eigentlichen Narkose jedoch herabsetzen (27). Diese Art der Komplikation trat bei der später verwendeten Kombinationsnarkose nicht mehr auf, nur ein Hund aus 44 zeigte bei der Sektion eine leichte, reversible, nicht letale Dünndarminvagination. Die Aufwachzeiten bei der später

verwendeten Kombinationsnarkose waren deutlich verkürzt, das Exzitationsstadium nach Beendigung der Narkose wurde deutlich ruhiger durchlaufen.

Zwar ist die Kombinationsnarkose wesentlich aufwendiger als die komplikationsreiche Barbituratnarkose, jedoch ist sie für derart lange dauernde Versuche geeigneter und schonender.

D. Diskussion

I. Operationen und Narkose

Die im geschilderten Vorhaben zur Erforschung immunologischer Feedback Mechanismen ausgeführten Transplantationen stellten für die Versuchstiere eine außergewöhnliche Belastung dar. Dies lag zum einen an dem kurzen Abstand zwischen den beiden Eingriffen, zum anderen an den mannigfaltigen Einzeloperationen, welche zur erfolgreichen Durchführung der Experimente notwendig waren. Die Eingriffe stellen ein polytraumatisches Ereignis dar, welches ohne intensive Überwachung und postoperative Behandlung der Tiere keinesfalls erfolgreich ausgeführt werden kann. Nur aufgrund der genauen postoperativen Behandlung, zu welcher auch die parenterale Ernährung gehört, war es möglich, die Tiere über einen Zeitraum am Leben zu erhalten, in dem auswertbare Ergebnisse zu erwarten waren.

Der Verschuß der Milzvene nach erfolgter Milztransplantation beim Hund erfolgt offensichtlich durch Stenosierung im Bereich der Anastomose mit anschließender Thrombusbildung. Die Milzvenenwand ist sehr dünn, das Lumen des Gefäßes sehr klein. Der venöse Abfluß aus der Milz erfolgt langsam und ohne starken Druck. Die Milz des Hundes ist nicht nur Teil des lymphatischen Systemes, sondern auch Blutspeicher. Bis zu 16 % der umlaufenden Blutmenge können in ihr zurückgehalten werden (50). Kommt es zu einer Störung des venösen Abflusses bedingt durch Stenose im Anastomosenbereich, so erfolgt vermehrt arterieller Zufluß, die Milz wird zum Blutschwamm. Die Kontraktilität der Kapselmuskulatur reicht zur Entspeicherung nicht mehr aus, die auftretende Blutstase begünstigt die Bildung der Thrombose an der stenosierte Stelle. Mehrere Autoren berichteten über die häufige Komplikation der Milzvenenthrombose beim Hund (45, 46, 48). **Simonsen** (64) versuchte bereits 1953 mit einem eingesetzten Plastikrohr eine Stenosierung der Anastomose zu verhindern. Zur Verhinderung von Stenosen und zur Vermeidung des Kollabierens der venösen Anastomose wurde die beschriebene „Patch-Technik“ entwickelt. Das verwendete Arterienstück spannt die Vene im Bereich der Anastomose „zeltartig“ auf, der Druck des umliegenden Gewebes wird besser toleriert. Die zusätzliche low-dose-Heparinisierung und Dextrangabe setzt das Thromboserisiko stark herab. Dihydroergotamin hat direkte konstriktorische Wirkungen, vor allem auf die erschlaffte Gefäßmuskulatur. Der Gefäßtonus läßt sich dadurch vor allem im Bereich der venösen Kapazitätsgefäße erhöhen (27). Bei den beschriebenen Versuchen wurde das Alkaloid zur Konstriktion der Milzsinus und Pulpavenen angewendet, um eine Verringerung des venösen Pools der Milz zu erreichen und die vorab beschriebene Schwammbildung zu verhindern. Die Kombination der drei erwähnten Verfahren (Patch – Heparin – Dihydroergot) kann so die hohe Komplikationsrate bei der Milztransplantation senken.

Bedingt durch die lange Dauer der Operationen stellt die Narkose ein zusätzliches Problem dar. Reine Mononarkosen mit mittellang wirkenden Barbituraten bewirken zunächst eine starke vagale Stimulation (27). Ob dies ursächlich für die aufgetretene postoperative Komplikation der Dünndarminvagination spricht, läßt sich

nicht mit Sicherheit sagen, doch fördert die postoperative Darmatonie nach Barbiturat-Mononarkosen die Bildung solcher Invaginationen. Auch könnte das mehrmalige Nachdosieren der Barbiturate während der Operation hier eine Rolle spielen. Bedingt durch den langsamen Abbau der Barbiturate könnte es postoperativ zu einer ständigen vagalen Reizung kommen, möglicherweise eine Ursache für die häufigen Dünndarminvaginationen. Für Eingriffe, die mit großen Traumen im Abdominalbereich verbunden sind, erscheint die Anwendung einer leichter steuerbaren Inhalationsnarkose vorteilhafter.

II. Versuchsanordnung

Nachdem die klinische allogene Organtransplantation inzwischen zu einem fest etablierten chirurgischen Behandlungsverfahren geworden ist, die unspezifische postoperative Immunsuppression jedoch den dauerhaften Erfolg dieser Eingriffe limitiert, wird derzeit weltweit versucht, die immunregulatorischen Vorgänge besser zu verstehen. Die Erarbeitung einer klinisch anwendbaren Methode zur Erzeugung einer spezifischen Unterdrückung der Immunantwort des Transplantatempfängers gegenüber dem allogenen Transplantat ist derzeit eine der wichtigsten Aufgaben immunologischer Forschung. Von allen immunologisch kompetenten Organen im Versuchstier Hund ist theoretisch die Milz dasjenige, das zum einen aufgrund seiner großkalibrigen Gefäßversorgung am günstigsten zu transplantieren ist, andererseits immunologisch relevant ist. Die Milz als transplantiertes Organ nimmt eine Sonderstellung gegenüber anderen Transplantaten ein, da sie in ihren Follikeln eine große Zahl von B-Lymphozyten und in den periarteriolen Lymphozytenscheiden eine große Zahl von T-Lymphozyten enthält. Sie ist damit als Transplantat nicht nur ein wehrloser Fremdkörper, sondern besitzt selbst die Fähigkeit immunologischer Interaktionen mit dem Wirt. Nach der Klonselektionstheorie von Burnet (8) besitzt der Organismus ständig eine große Zahl von Lymphozyten, deren Oberflächenrezeptoren jeweils für ein Antigen spezifisch sind. Trifft eine solche Zelle auf ihr Antigen, so wird sie zur Proliferation und zur Differenzierung stimuliert. Sie bildet einen Klon (=Stamm) von Plasmazellen, die Antikörper mit derselben Spezifität produzieren, welche die Oberflächenrezeptoren der Mutterzelle hatten. Da in der Milz eine große Zahl von Lymphozyten vorhanden ist, ist es durchaus möglich, daß nach Transplantation einige Lymphozyten aus der transplantierten Milz Spezifität für Gewebsantigene des Empfängers besitzen und so zur Proliferation und Differenzierung angeregt werden. Die danach gebildeten Antikörper haben dieselbe Spezifität wie ihre Ursprungszellen in der Milz, die für den spezifischen Antigenkontakt zuständigen Zellen der Milz sind somit sensibilisiert.

a. Anti-idiotypische Antikörper

Antikörper sind aus mehreren Polypeptidketten aufgebaut. Man unterscheidet die langen Schwereketten (H) von den Leichtketten (L). Zwei Schwer- und zwei Leicht-

ketten sind über Disulfidbrücken zu einem Immunglobulinmolekül verbunden. durch eiweißspaltende Enzyme läßt sich das Molekül in 3 Teile zerlegen. 2 sind identisch und bestehen aus einer Leicht- und einem Teil einer Schwereketten. Sie besitzen die Fähigkeit, sich mit dem Antigen zu verbinden (Fab= fragment antigen binding). Der Fc-Teil besitzt keine Spezifität für das Antigen (68). Der Fab-Teil kann in einen variablen und einen konstanten Bereich unterteilt werden. Die variablen Teile von Leicht- und Schwereketten zusammen bilden die Haftstelle für das Antigen. Die Zahl verschiedener variabler Teile ist entsprechend der Vielzahl der Antikörperspezifitäten unendlich groß (siehe Abb. 21). Antikörper werden mit derselben Spezifität produziert, welche die Oberflächenrezeptoren der Mutterzelle hatten. Antikörper, welche sich mit dem variablen Fab-Teil der Immunzelle verbinden können, welcher dieselbe Spezifität besitzt, kann man somit als anti-idiotypische Antikörper bezeichnen. Geschieht dies innerhalb eines Organismus, so kann man von auto-anti-idiotypischen Antikörpern sprechen. Ist eine solche Immunzelle von Anti-Idiotypen besetzt, so kann sie ihre Funktion der Antigenerkennung nicht mehr erfüllen.

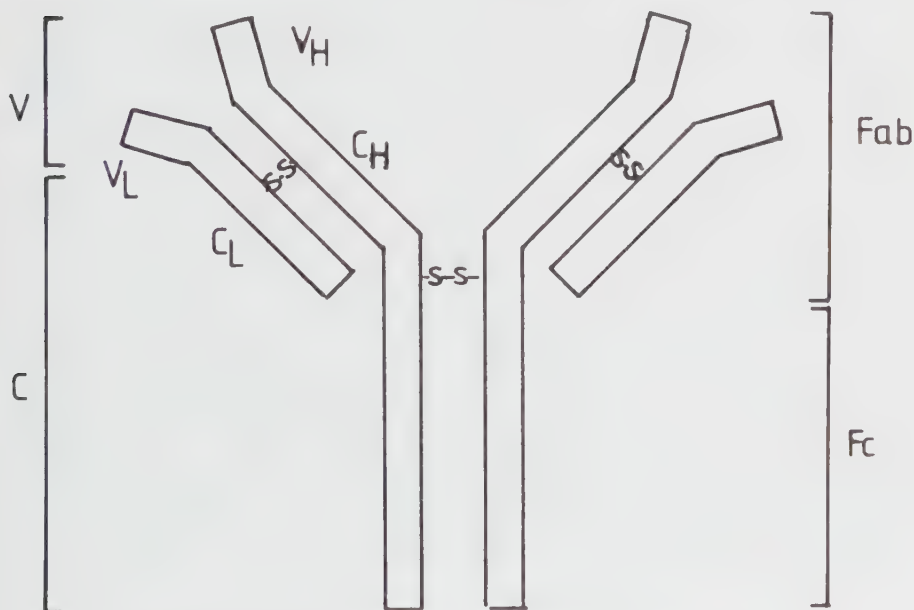


Abb. 21 Schema eines Antikörpers

Fc = konstantes Fragment, Fab = Antigen bindendes Fragment

C = konstanter Bereich, V = variabler Bereich

C_H = konstanter Bereich der Schwereketten

V_H = variabler Bereich der Schwereketten

C_L = konstanter Bereich der Leichtketten

V_L = variabler Bereich der Leichtketten

-s-s- = Disulfidbrücken

So waren die Überlegungen im vorliegenden Experiment folgende:

1. Nach der Transplantation der Milz vom E.H. auf den S.H. kommt es zu immunologischen Interaktionen des Transplantates mit dem S.H., in deren Verlauf ein Teil der in der Milz verfügbaren Lymphozyten Gewebsantigene des S.H. erkennt. Daraufhin folgt Klonbildung und die Produktion von Antikörpern. Diese sind spezifisch gegen die Gewebsantigene des S.H. gerichtet. Die in der Milz vorhandenen Immunzellen sind somit sensibilisiert.

2. Nach erfolgter Rücktransplantation der Milz auf den E.H. bei gleichzeitiger allogener Nierentransplantation sind nun im E.H. verfügbar:

- immune T- und B-Zellen aus der transplantierten Milz,
- nichtimmune Lymphozyten aus dem restlymphatischen Gewebe des E.H.,
- Gewebsantigene des S.H. aus der transplantierten Niere.

Die immunen T- und B-Zellen und die von ihnen produzierten Antikörper sind gegen die Gewebsantigene des S.H. gerichtet, stellvertretend hierfür steht die transplantierte Niere. Diese Antikörper bildenden Zellen aus der Milz und ihre Produkte werden von nichtimmunen Lymphozyten des restlymphatischen Systems des E.H. erkannt. Diese Lymphozyten tragen Rezeptoren mit derselben Spezifität, wie sie auch die sensibilisierten Lymphozyten aus der Milz und ihre produzierten Antikörper haben. Die Rezeptoren der nichtimmunen Zellen werden nun an ihren variablen Regionen der Fab-Teile besetzt, d. h. von Antikörpern derselben Spezifität, wie sie diese selbst bilden könnten. Damit stehen die mit den Idiotypen besetzten Lymphozyten dem Organismus nicht mehr in ihrer Funktion der Antigen-erkennung zur Verfügung. Auch wird der gegen Gewebsantigen (Niere) gebildete Antikörper von den nichtimmunen Lymphozyten als Antigen erkannt, es kommt zur Klonbildung und zur Produktion von Antikörpern gegen diese Antikörper, deren ursprüngliche Stammzellen in ihren variablen Rezeptoranteilen exakt dieselbe Spezifität besitzen, also zur Bildung von auto- anti- idiotypischen Antikörpern. Diese Anti-Idiotypen sind also gegen die Immunzellen aus der Milz gerichtet, welche für die Antikörperproduktion gegen das Nierenantigen verantwortlich sind. Es kommt somit zu einem Nichterkennen der nicht immunen Zellen des E.H. gegenüber dem Antigen (Niere), zum anderen zur Bildung von Antikörpern, welche gegen die Antikörper bildenden sensibilisierten Immunzellen aus der Milz gerichtet sind, die spezifisch gegen Gewebsantigene des S.H. wirken. (Schema hierzu siehe Abb. 22).

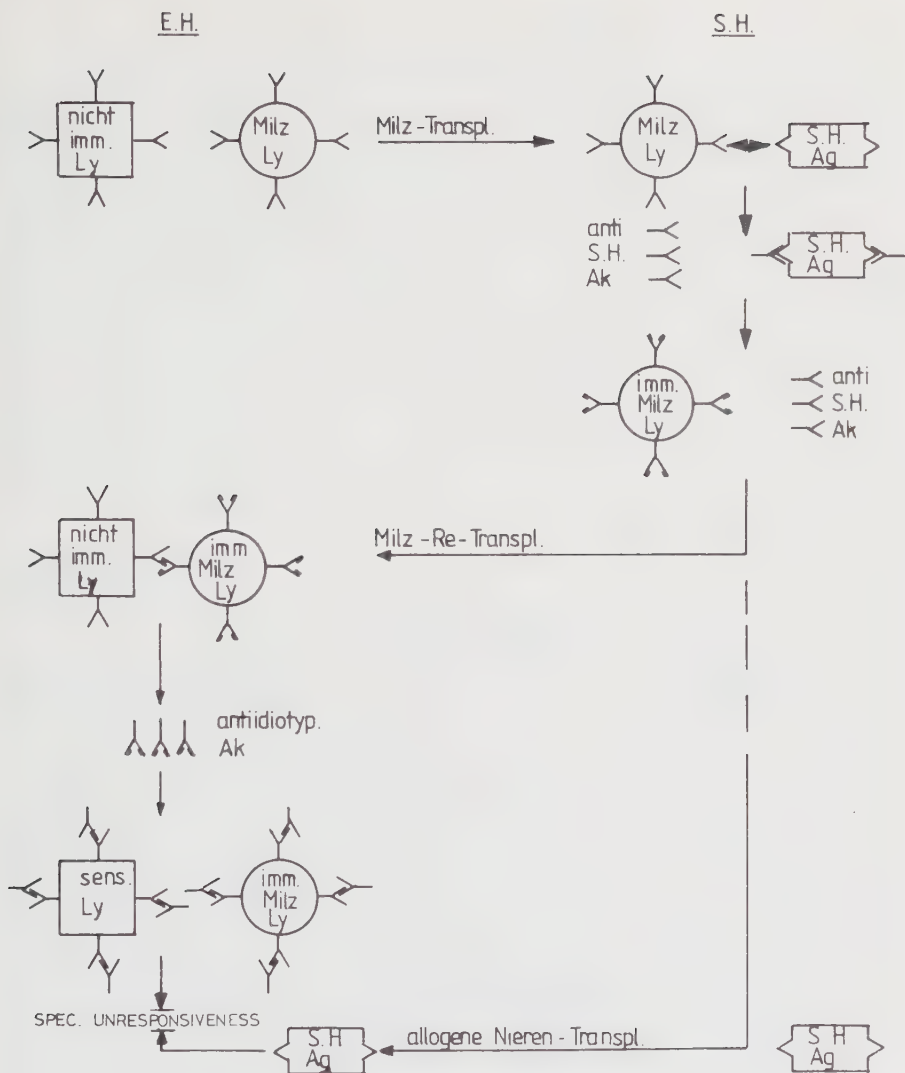


Abb. 22 Schema über die Ausbildung einer "specific unresponsiveness" nach der Milz- Hin- und Rücktransplantation sowie allogener Nierentransplantation.

b. Suppressor – Zell – Aktivität

Andererseits scheinen Feedback-Mechanismen bei der Induktion von Suppressor-T-Lymphozyten von immunen T bzw. B-Zellen auf nicht immune T-Zellen von eminenter Bedeutung zu sein, wobei thymusabhängige Regulatorzellen nach antigener Stimulation nicht in Helferzellen, sondern in spezifische Suppressorzellen ausdifferenziert werden (34). Möglicherweise handelt es sich bei diesen Feedback-Signalen um einen Antigen-Antikörper-Komplex, der auf kurzlebige Thymus-Regulatorzellen im Sinne einer Ausdifferenzierung zu Suppressorzellen einwirkt (2). Die Arbeiten der Gruppe um **Gershon** (31, 32, 33) zeigen, daß in in-vivo-Experimenten unter Benutzung von SRBC als Antigen bei Interaktionen zwischen nicht immunen T-Zellen und immunen B- und T-Zellen die spezifische Immunantwort gegen dieses Antigen nahezu vollständig supprimiert werden kann. Andererseits hatten nicht immune T-Zellen keinen Effekt auf eine Mischung aus immunen T- und nicht immunen B-Zellen. Daraus schlossen **Gershon et al.** (34). Je höher die Aktivität der Immunzellen ist, umso mehr Feedback-Produkte werden erzeugt. Diese Produkte werden von Regulator T-Zellen erkannt, welche die Immunantwort entweder unterdrücken oder verstärken können. Ist die Aktivität des Regulators hoch, so arbeitet die Regulatorzelle suppressiv.

Sampson et al. (60) konnten Verlängerungen von Überlebenszeiten von allogenen Nierentransplantaten bei Hunden zeigen. Die Hunde erhielten autologe, vorher 4 Tage lang kultivierte Milzlymphozyten am Tag der Transplantation.

Die Überlegungen im vorliegenden Experiment waren folgende:

Mit der Transplantation der Milz auf den S.H. werden die in der Milz vorhandenen B- und T-Lymphozyten einer antigenen Stimulation unterzogen. Das Ergebnis ist die Sensibilisierung bestimmter B- und T-Zellen, die gegen Gewebsantigene des S.H. gerichtet sind. Nach der Re-Transplantation der Milz auf den E.H. besteht ein Nebeneinander von spezifisch gegen Gewebsantigene des S.H. gerichteten immunen T- und B-Zellen und dem restlichen lymphatischen Gewebe des E.H. mit nicht immunen T-Lymphozyten. Zusätzlich sind Gewebsantigene des S.H. in Form der transplantierten Niere vorhanden. Unter dem Einfluß der immunen Zellen aus der Milz entsteht mit den nicht immunen T-Zellen des E.H. ein Komplex, der auf die Regulatorzellen einwirkt. Da das Angebot von Immunzellen aus der sensibilisierten Milz sehr hoch ist, wird bei den Regulatorzellen eine Ausbildung in Suppressorzellen, nicht in Helferzellen, erzeugt. Diese Suppressorzellen und ihre Produkte können spezifisch für eine Unterdrückung der Immunantwort des E.H. gegenüber dem Gewebsantigen des S.H. (Niere) sorgen. Unter dem Einfluß der Suppressorzellen wird das allogene Nierentransplantat toleriert. (Schema hierzu siehe Abb. 23).

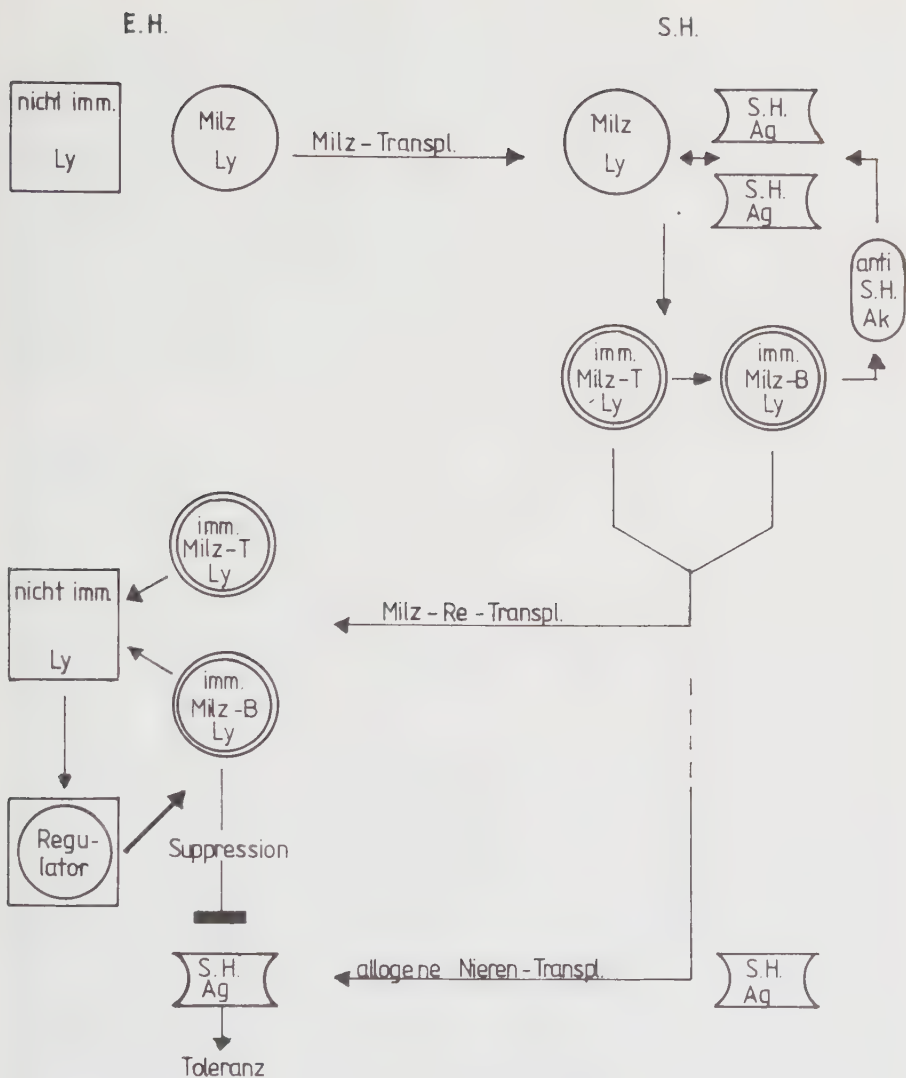


Abb. 23 Schema zur Entwicklung einer immunologischen Toleranz nach Milz- Hin- und Rücktransplantation gegenüber dem allogenen Nierentransplantat

c. Überlebenszeit von allogenen Nierentransplantaten

Die Ergebnisse haben gezeigt, daß die Überlebenszeit von den allogenen Nierentransplantaten in den vorliegenden Experimenten nicht verlängert werden konnte, das heißt, daß eine Protektion über immune Milzzellen nicht eintrat. Es scheint eher, daß je höher die Durchblutung der Milz und je geringer die Schädigung dieses Organes war, sich umso eher bei den Versuchstieren klinische und pathologisch erkennbare Anzeichen einer Abstoßung der transplantierten allogenen Nieren zeigten. Die durchschnittliche Überlebenszeit von allogenen Nierentransplantaten liegt beim Hund bei 8 – 10 Tagen (16, 20, 55, 64, 69). Nur bei den Versuchen mit einer Zwischenzeit von 2 Tagen zwischen den Milztransplantationen konnte eine durchschnittliche Überlebenszeit von 8,8 Tagen erreicht werden. Bei den vorliegenden 3- und 4-Tages-Experimenten erfolgte die Abstoßung der allogenen Nierentransplantate früher (7,6 und 7,8 Tage). Die immunen Milzzellen übten demnach keine protektive Funktion gegenüber einer Nierenabstoßung aus.

Die Ergebnisse lassen folgenden Schluß zu: Je länger die Milz im S.H. verbleibt, umso höher ist der Grad ihrer Sensibilisierung durch die Gewebsantigene des S.H. und umso größer ihre Antikörperproduktion gegen S.H.-Antigen. Werden nun die autologe Milz und die allogene Niere auf den E.H. transplantiert, so sind in diesem aufgrund der immunen, gegen S.H.-Antigen gerichteten, Zellen der Milz sofort sensibilisierte Lymphozyten gegen das allogene Nierentransplantat verfügbar. Ein gewisser Zeitraum zur Erkennung des Nierenantigens des S.H. ist zwar für das restlymphatische System des E.H. noch notwendig, über die Immunzellen der autologen Milz jedoch kann eine Immunantwort auf das allogene Nierentransplantat sofort anlaufen. Dies würde die beschleunigte Abstoßung der transplantierten Nieren erklären.

Auch liefert die Theorie über die Bildung von anti-idiotypischen Antikörpern mit dem Ziel der Erzeugung einer „specific unresponsiveness“ eine Erklärung für das Nichtzustandekommen der Verlängerung der Überlebenszeit des Nierentransplantates:

Mit der Re-Transplantation der autologen Milz und der gleichzeitigen allogenen Nierentransplantation stehen dem nicht immunen restlymphatischen System des E.H. einmal die Immunzellen aus der transplantierten Milz gegenüber, zum anderen die Antigene des S.H. in Form der transplantierten Niere. Für jede dieser Zellen (Immunzellen-Milz, Antigen-Niere) ist im restlymphatischen System des E.H. exakt derselbe Rezeptor spezifisch. So wäre es möglich, daß aufgrund ihres gleichzeitigen Vorhandenseins im E.H. Nierenantigen und Immunzellen der Milz um die Rezeptoren des nichtimmunen restlymphatischen Systems des E.H. in Konkurrenz treten. Kommt es nun zum Antigenkontakt (Nierenantigen) mit diesen Rezeptoren, so ist die Antikörperbildung gegen das Nierenantigen die Folge; antiidiotypische Antikörper können nicht oder nur geringfügig gebildet werden, die sensibilisierten Immunzellen aus der Milz können in ihrer Antikörperfunktion gegen Gewebsantigen des S.H. nicht mehr blockiert werden. Sie stehen somit für die Einleitung einer Abstoßungsreaktion sofort zur Verfügung.

Ebenso könnte die Suppressortheorie Anhaltspunkte für die zeitlichen Unterschiede der Abstoßungsreaktionen liefern. Sampson (60) verwendete für allogene Nierentransplantate bei Hunden autologe Milzlymphozyten die einer 4-tägigen Inkubation unterzogen waren. Mit der MLC (mixed lymphocyte culture) stellte er nach Stimulation der Milzlymphozyten in vitro bereits einen suppressiven Effekt fest. Er konnte damit davon ausgehen, bei der Nierentransplantation mit der Applikation der stimulierten Milzzellen einen direkten, sofortigen suppressiven Effekt zu erzeugen. Im vorliegenden Experiment mußten jedoch die sensibilisierten Milzlymphozyten erst mit dem nicht immunen restlymphatischen System des E.H. in Kontakt treten, um dann über eine hohe Aktivität der Regulatorzellen eine Ausdifferenzierung dieser in Suppressorzellen zu bewirken. Diese Kontaktaufnahme erfolgt im vorliegenden Fall jedoch zum selben Zeitpunkt wie die Exposition des E.H. mit dem Antigen (Niere). Wieder ist es möglich, daß zwischen Antigen und sensibilisierten Lymphozyten ein Konkurrenzkampf um spezifisch denselben Rezeptor an nicht immunen Lymphozyten des E.H. erfolgt. Gewinnt das Nierenantigen nun diesen Wettkampf, so würde dies die Ausbildung von Helfer- und nicht von Suppressorzellen zur Folge haben; dies würde die Stimulierung von bereits vorhandenen, sensibilisierten B-Zellen zur Folge haben und eine möglicherweise bereits begonnene Abstoßungsreaktion der allogenen Niere noch beschleunigen.

d. Funktionskontrolle der transplantierten Organe

Serum- Creatinin und Serum-Harnstoff gelten als die zuverlässigsten Parameter für die Funktion der Niere, zum anderen kann die Diurese qualitativ überwacht werden. Den Ausfall einzelner Nephrone kann die Niere durch eine Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate kompensieren (9). Eine Verminderung dieser Rate auf unter 25 % des Normwertes führt zum Anstieg der harnpflichtigen Substanzen im Serum und damit zum Tod in der Urämie (11, 62). Bei den vorliegenden Experimenten zeigte sich zunächst ein sofortiger Anstieg der harnpflichtigen Substanzen bis zum 5. postoperativen Tag, danach wird der Anstieg kurzzeitig nur wenig flacher, um schließlich wieder stetig steil anzusteigen. Der sofortige Anstieg der harnpflichtigen Substanzen könnte aufgrund des verminderten Nierenparenchyms stattfinden. Die Tiere wurden bei der ersten Operation bereits einseitig nephrektomiert und es ist nicht sicher, ob bis zur eigentlichen Nierentransplantation ein Kompensationseffekt aufgetreten ist. Auch kann die katabole Stoffwechsellage postoperativ für den vermehrten Anfall von Ausscheidungsprodukten verantwortlich sein (36).

Auffällig ist jedoch, daß es nach dem primären Anstieg von Harnstoff und Creatinin praktisch kaum zu einer Kompensation durch Zunahme der glomerulären Filtrationsrate kommt. Folgende Erklärung hierfür wäre denkbar: Die rücktransplantierte Milz enthält in hoher Konzentration gegen Gewebsantigene des S.H. gerichtete, vorsensibilisierte Immunzellen. Für diese Zellen ist der Zeitraum von Antigenerkennung, Klonbildung und Antikörperproduktion gegen die Gewebean Antigene des S.H. bereits abgeschlossen. Diese Antikörper bildenden Zellen stehen nun dem Antigen des S.H. (Niere) sofort gegenüber. Antigen-Antikörper-Komplexbildungen können in der transplantierten Niere sofort erfolgen, eine Schädigung des

Nierenparenchyms ist die Folge. Eine Kompensation durch die Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate ist nicht mehr möglich. Diese Annahme geht konform mit dem in D.II.d. beschriebenen. Ein Nichtauftreten eines Kompensationseffektes postoperativ könnte also auf die beschleunigte Abstoßung hinweisen. Zur genauen Feststellung von Abstoßungskrisen wäre die tägliche Entnahme und mikroskopische Untersuchung von Feinnadelbiopsiematerial aus der transplantierten Niere zu erwägen. Lymphozyteninfiltrate und Plasmazellen könnten durch mikroskopischen Nachweis genau den zeitlichen Beginn einer Rejektion aufzeigen. Schwierig ist es, intra vitam die Durchblutung der transplantierten Milzen zu überwachen. **Mahajan et al.** (46) versuchten dies mit der Erstellung von Arteriogrammen. Sie kamen dabei zu dem Schluß, daß mit dieser Methode zwar die Durchblutung der großen Milzgefäße gut darzustellen sind, nicht jedoch der eigentliche Funktionszustand des gesamten Organes. In den vorliegenden Experimenten konnte der Funktionszustand der transplantierten Milzen zu Beginn der zweiten Operation makroskopisch nach Farbe und Oberflächenbeschaffenheit des Organes überprüft werden. Auffällig war hierbei die Größe des transplantierten Organes, die bis um das doppelte des Ausgangswertes anstieg. **Wheeler** beobachtete dies ebenfalls (71) und interpretierte es mit immunologischen Interaktionen. Da jedoch mit der Einführung der Dihydroergotaminapplikation in den vorliegenden Experimenten eine deutliche Organvergrößerung nicht mehr auftrat, darf angenommen werden, daß es sich hier um einen erhöhten Füllungszustand des venösen Pools handelte. Inwieweit eine follikuläre Hyperplasie als Zeichen immunologischer Aktivität zum Zeitpunkt der Retransplantation vorlag, konnte makroskopisch nicht geklärt werden. Die Entnahme und Untersuchung von Biopsiematerial zu Beginn der zweiten Operation wäre die Möglichkeit zum Nachweis vermehrt auftretender Plasmazellen und Mitosen. Die Durchführung dieser Biopsie birgt jedoch die Gefahr der Blutung des Organes bei den ohnehin heparinisierten Versuchstieren.

Über die Funktion der re-transplantierten Milzen konnten nur Makro- und Mikropathologie nach dem Exitus der Tiere Aufschluß geben. **Groth et al.** (35) überwachten die Funktion der Milz nach Transplantation mittels Scanning nach Radioisotopenapplikation (Technecium-Sulfid). Die Anwendung dieser Methode kam im vorliegenden Fall aus technischen Gründen nicht in Frage.

e. Pathologisch-anatomische Untersuchungen

Das morphologische Bild eines transplantierten Organes ist geprägt durch die Immunantwort des Empfängers. Aufgrund der zellvermittelten und der humoralen Immunantwort des Organempfängers unterscheidet man drei verschiedene Formen der Abstoßung:

1. humoral
2. zellulär
3. gemischt humoral und zellulär

Bei einer rein humoralen Abstoßungsreaktion fehlen Zellinfiltrate, es kommt zur Endothelschädigung, Thrombozytenaggregation und zu Immunglobulinablagerungen.

Bei der zellulären Abstoßung herrschen Lymphozyteninfiltrate und Plasmazellen vor.

Die gemischte Form beginnt zellulär, später zeigen sich zusätzliche humorale Reaktionen mit fibrinoiden Medianekrosen in Arterien sowie intravasalen Gerinnungsvorgängen (37, 49, 56, 58).

Bei den vorliegenden Versuchen trat die Abstoßung der Niere in zellulärer Form ein, bei Hunden die 7 Tage und länger überlebten, waren humorale Reaktionen zu erkennen. Dies entspricht dem Bild einer gemischten Abstoßungsreaktion, eine rein humorale Rejektion konnte in keinem Fall nachgewiesen werden. In der Literatur ist bei allogenen Nierentransplantaten überwiegend die zelluläre Form der Abstoßung beschrieben (15, 21, 22). Humorale Reaktionen finden sich vorwiegend bei hyperakut abgestoßenen Nieren unter der Einwirkung praeformierter zytotoxischer Antikörper (68). Es konnte bei den vorliegenden Experimenten nicht geklärt werden, zu welchem Zeitpunkt genau die humoralen Reaktionen auftraten. Dies könnte durchaus auch vor den zellulären Reaktionen geschehen sein. Dabei wäre es möglich, daß sensibilisierte Zellen aus der transplantierten Milz bei den Transplantatreaktionen eine Rolle spielten. Aufgrund der Überlebenszeit der Nierentransplantate ist jedoch eine hyperakute Abstoßung auszuschließen. Die mikropathologischen Zeichen der Abstoßung waren zum Zeitpunkt der Nierenentnahme sehr stark und deutlich ausgeprägt. Es besteht daher Grund zu der Annahme, daß die Abstoßungsreaktionen bereits früher auftraten als bei „normalen“ Nierenallotransplantaten. Aufgrund des Vorhandenseins der sensibilisierten Immunzellen aus der Milz könnte es sich somit um eine beschleunigte, akute Transplantatreaktion gehandelt haben.

Das morphologische Bild eines Milztransplantates nach allogener Transplantation wurde von **Wheeler** (71) beschrieben: „Kurz nach der Transplantation sind die Lymphfollikel die Stelle der zellulären Aktivität. Sie sind groß, zeigen eine relativ große Anzahl von Zellen in Mitose und enthalten viele Retikulumzellen - die Vorläufer der Antikörper bildenden Zellen. 48 Stunden postoperativ beginnt die Einwanderung von Plasmazellen, und danach verschwinden die Retikulumzellen schnell“. Man kann daraus ersehen, daß die Milz sofort nach der Transplantation eine ausgeprägte antigene Stimulation von Seiten des Empfängers erfährt und mit einer graft-versus-host-Reaktion antwortet. Diese jedoch wird durch eine wesentlich stärkere Immunantwort des Empfängers verdrängt, was schließlich zur Rejektion des Organes führt.

Bei den vorliegenden Versuchen blieben die Milzen nur bis zu maximal 4 Tagen im S.H. Die histologischen Untersuchungen erfolgten nach dem Exitus der Tiere nach erfolgter Retransplantation. Inwieweit damit die obig beschriebenen Abläufe bestätigt werden können, läßt sich folglich nicht sagen. Histologisch waren nach der Re-Transplantation der Milzen keine Anzeichen einer Immunvaskulitis feststellbar, Anzeichen einer Transplantatreaktion traten nicht auf. Dies dürfte durch den Weg-

fall des restlichen Immunsystems des S.H. nach der Retransplantation bedingt sein. Kein Zweifel besteht an der immunologischen Funktionsfähigkeit der Milz nach der Rücktransplantation, was sich morphologisch in der großen Zahl der Mitosen ausdrückt. Die Mitoseaktivität müßte bereits im S.H. als Ausdruck der Immunreaktion der Milz gegen S.H.-Antigen entwickelt worden sein. Im E.H. erfahren dann die Immunzellen eine weitere Stimulation durch das Antigen der transplantierten Niere, werden aber vom restlichen immunen System des E.H. nicht angegriffen, wofür ihr Vorhandensein in der retransplantierten Milz spricht. Unklar ist das häufige Auftreten von Plasmazellen in der retransplantierten Milz. Sind sie schon im S.H. im Rahmen einer Abstoßung in die Milz eingewandert, so hätten sie im E.H. von dessen restlichem lymphatischen System als Antigen erkannt und eliminiert werden müssen. So ist in diesem Fall eher anzunehmen, daß es sich um Produkte der Milz oder des restlichen lymphatischen Systems des E.H. zur Antikörperproduktion gegen das Nierenantigen handelt. Bei der durchgeführten Pilotstudie, einer allogenen Milztransplantation (Hund 409), fanden sich Plasmazellen, gut erhaltene Follikel und Mitosen nebeneinander. So läßt sich als Bildungsstätte der Plasmazellen die Milz selbst vermuten, da nekrotische Veränderungen in der Milz, die für eine Abstoßung sprechen würden, nicht gefunden werden konnten, obwohl das allogene Transplantat 6 Tage im S.H. war. Dies spräche demnach für eine graft-versus-host-Reaktion, obgleich pathologische Veränderungen an Organen des S.H. nicht nachgewiesen werden konnten.

III. Immunbiologische Vorgänge

a. Plaque bildende Zellen

Die derzeit gängigste Technik zum Nachweis Antikörper produzierender Zellen ist gegenwärtig die Plaque-Technik nach **Jerne** (38, 39). Diese Methode wurde bereits in mehreren Variationen bei Organen und Blut von Mäusen (12), Meerschweinchen (40), sogar beim Huhn (1), Schwein (13) und beim Menschen mit Erfolg angewendet (23). Auf das Versuchstier Hund ließ es sich jedoch bisher noch nicht übertragen. Um eine hämolysierende Wirkung und damit eine Antikörperbildung der Plaque bildenden Zellen in vitro zu erreichen, ist in der Regel das Komplementsystem als unspezifischer Serumbestandteil erforderlich. Möglicherweise ist beim Hund ein zusätzlicher, derzeit noch unbekannter, Faktor nötig, welcher es erst erlaubt, daß die Antikörper bildende Zelle mit dem Antigen in Kontakt tritt oder sie erst als solche erkennt. Tatsache ist jedoch, daß beim Hund gegen das verwendete Antigen (SRBC und HRBC) Antikörper bildende Zellen ausdifferenziert werden, was sich durch den erfolgten Nachweis der spezifischen Serumantikörper bestätigen läßt. Eine mögliche weitere Erklärung für das Nichtfunktionieren des in vitro Nachweises von Antikörper bildenden Zellen stellt die starke Wärmeempfindlichkeit der Hundelymphozyten sowie ihre Labilität gegenüber dem verwendeten Medium dar.

b. Hämolisierende Antikörper

Es konnte zunächst gezeigt werden, daß es nach massiver Immunisierung mit dem jeweiligen verwendeten Antigen zu einer Entwicklung von Antikörper bildenden Zellen kommt, was im modifizierten Mancini-Test über hämolysierende Antikörper zum Ausdruck kommt. Die verwendeten Antigene (HRBC und SRBC) sind demnach gute Parameter zur Darstellung der immunologischen Aktivität der Versuchstiere.

Mit der Transplantation der Milz vom E.H. auf den S.H. kommt es zu einer Übertragung von immunologisch aktiven, Antikörper bildenden Zellen, deren Aktivität gegen HRBC gerichtet ist. Mit diesem Antigen ist der E.H. immunisiert worden. Die Milz verbleibt bis zu 4 Tagen im S.H. Während dieser Zeit kommt es zu einem Anstieg der hämolysierenden Antikörper gegen HRBC in diesem Tier. Antikörper und Antikörper bildende Zellen haben im allogenen Organismus antigene Funktion. Sie müßten also im S.H. als fremd erkannt, angegriffen und eliminiert werden. Dieser Fall trat jedoch zumindest im gemessenen Zeitraum von 4 Tagen nicht ein. Ein zunehmender Anstieg der hämolysierenden Antikörper gegen HRBC zeigt dies. Das restlymphatische System des S.H. scheint somit innerhalb der untersuchten Zeit nicht in der Lage zu sein, genügend Antikörperaktivität gegen das gegebene Antigen (Anti-HRBC-Antikörper) zu entwickeln. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die beim S.H. durchgeführte Splenektomie liefern. Zum Zeitpunkt der Antigenexposition (transplantierte Milz) wird der S.H. eines wesentlichen Teiles seines eigenen Immunsystems beraubt (Splenektomie) und selbst mit dem immunologisch aktiven Milztransplantat konfrontiert. Die allogene Milz könnte als aktives Immunorgan so eine protektive Funktion für die von ihr gebildeten Produkte ausüben (Anti-HRBC-Antikörper), das restliche lymphatische System des S.H. ist so kurzzeitig nach der Entfernung der eigenen Milz zur Immunreaktion gegen die Anti-HRBC-Antikörper nicht in der Lage. Van Wyck und Witte (67) konnten bei splenektomierten Hunden nach Immunisierung mit SRBC keine Bildung hämolysierender Antikörper gegen dieses Antigen nachweisen, was zusätzlich darauf hindeutet, daß die immunologische Funktion der Milz vom restlichen lymphatischen System des Organismus nicht sofort und in vollständigem Maße übernommen werden kann.

Nach erfolgter Rücktransplantation der Milz auf den E.H. trat bei diesem ein Anstieg der hämolysierenden, gegen SRBC gerichteten, Antikörper ein. Mit SRBC-Antigen war der S.H. vor der ersten Transplantation immunisiert worden. Es wurde somit nachgewiesen, daß mit der retransplantierten Milz ein Immunzelltransfer stattfand. Offensichtlich akzeptiert die Milz des E.H. vom Immunsystem des S.H. gebildete Antikörper produzierende Lymphozyten, deren Aktivität gegen SRBC gerichtet ist. Mit dem verwendeten Antigen (SRBC) selbst hatte der E.H. keinen Kontakt. Geht man davon aus, daß Antikörper bildende Zellen und ihre Produkte für einen allogenen Organismus selbst antigen sind, so erhebt sich die Frage, warum die auf den S.H. transplantierte Milz nicht mit Antikörperproduktion gegen Anti-SRBC-Antikörper reagierte. Möglicherweise ist die Milz alleine dazu nicht in der Lage und benötigt zusätzlich das eigene restliche lymphatische System ihres Orga-

nismus. Nach der Rücktransplantation der Milz wird das Vorhandensein von Antikörper bildenden, gegen SRBC gerichteten, Immunzellen im E.H. bis zum Ende des gemessenen Versuchszeitraumes toleriert, ein serologisch nachgewiesener Anstieg der Antikörper gegen SRBC zeugt sogar von der unbehinderten immunologischen Aktivität der für den E.H. allogehen Immunzellen. Warum diese Immunzellen vom restlichen lymphatischen System des E.H. nicht angegriffen wurden, konnte nicht geklärt werden.

Die Ergebnisse über die Bildung hämolysierender Antikörper bei den splenektomierten Kontrollhunden zeigen deutliche Unterschiede zu denen der Versuchshunde. Eine Reaktion auf das verwendete Antigen (SRBC und HRBC) ist zwar offensichtlich, jedoch ist die Stärke der Antikörperbildung weit geringer als bei den Versuchshunden mit Milz. Die Splenektomie dieser Tiere erfolgte über ein Jahr vor der Durchführung der Immunisierungen. Dies läßt darauf schließen, daß die immunologische Funktion der Milz selbst innerhalb eines so langen Zeitraumes von dem restlichen lymphatischen System des Organismus nicht vollständig ersetzt werden kann.

c. Hämagglutinierende Antikörper

Die Ergebnisse der Untersuchungen über die Bildung von hämagglutinierenden Antikörpern bestätigen im wesentlichen das über die hämolysierenden gesagte. Ein leichter Anstieg des Antikörpertiters (Anti-SRBC) war bei den mit HRBC immunisierten, aber nicht mehr zur zweiten Operation gekommenen Versuchshunden zu verzeichnen. Es liegt hierzu die Erklärung nahe, daß es sich hierbei um kreuzreagierende Antikörperbildung handelte (35 a).

d. DLA-Übertragung

Die Antigene des Histokompatibilitätssystems können in eine serologisch determinierbare Gruppe (SD) und eine durch die Funktion der Lymphozyten determinierbare Gruppe (LD) unterteilt werden (68). Beim durchgeführten Mikrolymphozyto-toxizitätstest wurden als Antigen die Lymphozyten der Versuchstiere verwendet, als Antikörper die verschiedenen derzeit bekannten DLA-Antiseren. Bei der Antigen-Antikörper-Reaktion mit den membrangebundenen Antigenen der Lymphozyten unter Komplementaktivierung kommt es zu einer Schädigung der Zellmembran, so daß der verwendete Farbstoff in die Zelle penetrieren kann. Die Reaktion gilt als positiv, wenn mindestens 20 % der Zellen angefärbt sind.

Im vorliegenden Fall konnte bei einem Versuchstierpaar ein Lymphozytentransfer nach der Rücktransplantation der Milz auf den E.H. nachgewiesen werden. Ein bei diesem Tier vor der Transplantation nicht nachweisbares Lymphozytenantigen konnte mittels des „carriers“ Milz auf den E.H. übertragen werden. Die Lymphozyten mußten im Rahmen der Immunantwort des E.H. im Laufe der Zeit zerstört worden sein. Ein Nachweis von Antikörperbildung gegen DLA-B4 könnte dies bestätigen. Aufgrund der niedrigen Fallzahlen sowie einer häufig nicht sicher möglichen Typisierung wurde auf eine tägliche postoperative DLA-Testung verzichtet.

IV. Folgerung aus immunbiologischen Vorgängen

Die operativen Ergebnisse haben gezeigt, daß eine Milztransplantation beim Hund unter Anwendung der eigens entwickelten Patch-Technik erfolgreich ausgeführt werden kann. Im Rahmen des beschriebenen Versuchsablaufes kam es jedoch nicht zu der Ausbildung einer Toleranz gegenüber dem Allotransplantat Niere aufgrund der Stimulierung von Suppressorzellen. Auch die Theorie über die Entwicklung einer „specific unresponsiveness“ aufgrund der Ausdifferenzierung von auto-anti-idiotypischen Antikörpern konnte im vorliegenden Fall nicht nachvollzogen werden.

Eine möglicherweise entscheidende Bedeutung kommt der bei den Versuchen durchgeführten Splenektomie des S.H. zu. Ursprünglich wurde sie aus Platzgründen durchgeführt, jedoch muß man von der Überlegung ausgehen, daß damit das eigene lymphatische System des S.H. stark geschwächt wurde. Die transplantierte allogene Milz konnte so möglicherweise überwiegend ihre eigene immunologische Aktivität entfalten. Auch **Bitter-Suermann** (6) berichtet in seiner Arbeit über Milztransplantationen bei Ratten von vorkommenden Imbalancen nach Ausschaltung des Immunsystems durch Ganzkörperbestrahlung und möglicher überwiegender lymphatischer Funktion der transplantierten Milz. Es ist anzunehmen, daß die transplantierte Milz im S.H. aufgrund dessen Gewebsantigenizität sensibilisiert wird und die Lymphozyten in der Milz zur Antikörperproduktion gegen Gewebeantigene des S.H. angeregt werden. Die Verschiebungen des Gleichgewichtes nach Splenektomie des S.H. zugunsten des Immunsystems der transplantierten Milz könnte man einer graft-versus-host-Reaktion gleichsetzen. Im splenektomierten Tier (=S.H.) beginnt die transplantierte Milz gegen den allogenen Organismus vorzugehen, stellvertretend hierfür steht die später transplantierte Niere. Nach ihrer Re-Transplantation stehen der Milz sofort Zellen für die Antikörperproduktion gegen die allogene Niere zur Verfügung, die Phase der Antigenerkennung und Sensibilisierung ist bereits im S.H. angelaufen. Eine mögliche Verbesserung der Ergebnisse könnte demnach durch das Belassen der autologen Milz des S.H. zu erzielen sein.

Der Ausbildung einer „specific unresponsiveness“ aufgrund der Entwicklung von anti-idiotypischen Antikörpern steht nach der Rücktransplantation möglicherweise die Tatsache entgegen, daß das allogene Nierentransplantat als Antigen für die Abstoßungsreaktion sofort zur Verfügung steht. Eine Sensibilisierung des nicht immunen lymphatischen Systems und die Besetzung der Immunzellrezeptoren mit Anti-Idiotypen erfolgt demnach zur selben Zeit wie die Abstoßung der Niere. Damit sich genügend anti-idiotypische Antikörper bilden können, würde es sich anbieten, das allogene Nierentransplantat erst nach erreichter „specific unresponsiveness“ dem E.H. zu übertragen. Das gleiche gilt für die Theorie über die Entwicklung von Suppressorzellen. Erst wenn nach der Rücktransplantation der Milz eine starke Suppressoraktivität erreicht ist, würde sich die Allotransplantation der Niere anbieten. Der genaue Zeitpunkt der höchsten Suppressor-Aktivität und damit der Zeitpunkt der Allotransplantation ließe sich durch die tägliche Erstellung einer MLC (mixed leucocyte culture) feststellen. Es ist jedoch zu bedenken, daß bei einem solchen Vorgehen die Tiere in kurzer Zeit drei schwere Eingriffe zu überste-

hen haben, was den Erfolg der Operationen limitieren dürfte. Um operativ eine Erleichterung des Versuches zu erreichen, könnte man anstelle des allogenen Nierentransplantates ein Hauttransplantat als Parameter für die Abstoßungsreaktionen verwenden.

E. Zusammenfassung

Ziel der experimentellen Transplantationsforschung ist es, spezifische Methoden zur Unterdrückung der Abstoßungsreaktion zu erarbeiten. Während in der immunologischen Grundlagenforschung bereits eine Reihe spezifischer Suppressormechanismen bekannt sind, (Suppressor-Zellen, antiidiotypische Antikörper), ist ihre praktische Anwendung in der Klinik noch nicht durchführbar, da entsprechende Untersuchungen an kliniknahen Versuchsmodellen ausstehen.

In Analogie zu existierenden Versuchsanordnungen bei definierten Ratten-Inzucht-Stämmen wurde zum Studium immunologischer Feedback-Mechanismen am Hund folgende experimentelle Versuchsanordnung getroffen:

1. Allogene Milztransplantation von E.H. auf S.H.
2. Nach Intervall von 2–4 Tagen autologe Rücktransplantation der Milz von S.H. auf E.H. und gleichzeitige allogene Nierentransplantation von S.H. auf E.H.
3. Erzielte immunologische Situation:
Nebeneinander von nichtimmunem System (=lymphatische Organe außer Milz) plus immunem System (=sensibilisierte Milz) im E.H., anlaufende Immunantwort gegen das Nierentransplantat von S.H.

Ergebnisse:

1. Unter Anwendung einer neueren Technik (Durchführung einer Plastik im Bereich der venösen Anastomose bei Anschluß der Milz an die Nierengefäße) konnte in 15 Fällen eine erfolgreiche Milztransplantation und Milzrücktransplantation durchgeführt werden.
2. In allen Fällen kam es zur Abstoßungsreaktion der transplantierten Niere innerhalb von durchschnittlich 8 Tagen.
3. Die transplantierte und rücktransplantierte Milz war immunologisch voll aktiv: Die Immunisierung von E.H. mit HRBC führte zum Nachweis von Antikörpern gegen HRBC beim S.H. nach Milztransplantation. In umgekehrter Weise führte die Immunisierung des S.H. mit SRBC zum Nachweis von Antikörpern gegen SRBC beim E.H. nach Rücktransplantation der Milz.

Die durchgeführte Versuchsanordnung erlaubt die Untersuchung von Immunreaktionen gegen introduzierte allogene Histokompatibilitäts-Antigene beim Hund, wobei nichtimmune Lymphozyten von immunen Lymphozyten beeinflusst werden. Eine Suppressor-Aktivität, d.h. ein die Transplantatüberlebenszeit verlängernder Effekt konnte allerdings in den Experimenten bisher nicht nachgewiesen werden.

E. Summary

Allogeneic Transplantation of Dog Spleen with Following Retransplantation of the Spleen-Graft in Combination with Allogeneic Kidney Transplantation.

It was the aim of the work to receive a model for specific suppression of graft rejection. While there are some in vitro and various experimental in vivo methods available (Suppressor-Cells, Antiidiotypic Antibodies), there was no application in clinical trials.

In analogy to existing models in defined inbred strains of rats, the following experimental approach to study immunological feedback-mechanisms has been made:

1. Allogeneic transplantation of the spleen from recipient to kidney donor.
2. After interval of 2–4 days autologous retransplantation of the spleen graft in combination with simultaneous allogeneic transplantation of the kidney from donor to recipient.
3. Achieved immunological situation:
Co-existence of non-immune system (lymphatic tissue except spleen) and immune system (sensitized spleen) in the recipient; beginning immunological answer against the renal transplant of the donor.

Results.

1. With application of a recently developed technique (development of a blood-vessel plastic in the region of venous anastomosis with junction of the spleen to the renal vessels) successful spleen transplantations and retransplantations in 15 cases have been carried out.
2. In the mean, in all cases rejection of the transplanted kidney occurred within 8 days.
3. The transplanted and retransplanted spleen was immunologically fully active: the immunisation of the recipient with HRBC led to antibodies against HRBC in the donor after transplantation of the spleen. Vice versa the immunisation of the donor with SRBC led to antibodies against SRBC in the recipient after retransplantation of the spleen.

The model developed allows to study immunological reactions against introduced allogene histocompatibility antigens in dogs, in the course of which non-immune lymphocytes are influenced by immune lymphocytes. Suppressor activity, anti-idiotypic antibodies, i.e. their function in prolonging survival time of an allograft, could not yet be proven in these experiments.

F. Literaturverzeichnis

1. Alm G.V.:
In vitro Studies of Chicken Lymphoid Cells.
Int. Arch. Allergy 41 (1971) 345–357
2. Basten A., Miller J.F.A.P., Johnson P.:
T-Cell dependent Suppression of an Anti-hapten
Antibody Response.
Transpl. Rev. 26 (1975) 130
3. Binz H., Wigzell H.:
Shared Idiotypic Determinants on B and T Lymphocytes reactive against
the same Antigenic Determinants.
J. Exp. Med. Vol. 142 (1975) 197–211, 1218–1239
4. Binz H., Wigzell H.:
Specific Transplantation Tolerance Induced by Autoimmunisation
against the Individual's Own, Naturally Occurring Idiotypic, Antigen-
Binding Receptors
J. Exp. Med. Vol. 144 (1976) 1438–1457
5. Binz H., Wigzell H., Häyry P.:
Correlation between specific Cytolysis and Expression of Idiotypic
Receptors on Allograft-Infiltrating Cells.
Nature, 259 (1976) 401
6. Bitter-Suermann H.:
Splenic Transplantation in Rats.
Acta Chirurgica Scand. Suppl. 455
(1975) Stockholm
7. Bohunicka E., Koza I., Kuzela S., Krempasky V., Ujhazy V.:
Immunosuppression with Cyclophosphamide: Effect on Antibody
Plaque-Forming Spleen Cells and on Hemolytic Antibodies Production.
Neoplasma 19, 6 (1972) 611
8. Brandis H.:
Einführung in die Immunologie.
Stuttgart (1972), Burnet F.M., The Clonal Selection
Theory of Acquired Immunity. Cambridge University Press (1959)
9. Bricker N.S., Klahr S., Rieselbach R.E.:
The Functional Adaptation of the Diseased Kidney.
I. Glomerular Filtration Rate.
J. Clin. Inv. 43 (1964) 1915
10. Buddecke E.:
Grundrisse der Biochemie
4. Auflage. Walter de Gruyter, Berlin, New York (1974)

11. Bull G.M.:
The Uraemias.
The Lancet (1955)
12. Buschmann H.:
Populationsgenetische Untersuchungen zur Variabilität der Anzahl
plaquebildender Zellen in der Milz von Mäusen.
Z. Immun.-Forsch. Bd. 141 (1970) 37–48
13. Buschmann H.; Schumann H.:
A Kinetic and Genetic Study of the Cellular and Humoral
Immune Response in Pigs after Immunisation with Sheep Erythrocytes.
Z. Immun.-Forsch. Bd. 141 (1971) 211–222
14. Buschmann H., Junge V., Kräußlich H., Radzikowski A.:
A Study of Immune Response to Sheep Erythrocytes in Several Breeds
of Swine.
Med. Microbiol. Immunol. 159 (1974) 179–190
15. Calne R.:
Renal Transplantation.
Williams and Wilkins, Baltimore (1963)
16. Carpenter C.B. et al.:
The Role of Antibodies in the Rejection and Enhancement of Rat Organ
Allografts: non AG-B Antigens
Transpl. Proc., 8 (1976) 199
17. Carrel A.:
Results of the Transplantation of Blood Vessels, Organs and Limbs.
J. Amer. Med. Ass. 51 (1908) 1662
18. Carrel A.:
Remote Results of the Replantation of the Kidney and Spleen.
J. Exp. Med. 12 (1910) 146
19. Chiller J.M., Weigle W.O.:
A simple method for quantitation of hemolytic antibodies.
Immunochemistry, Pergamon Press, Great Britain
Vol. 7 (1970) 992–996
20. Dempster W.J.:
Kidney Homotransplantation.
Brit. J. Surg., 40 (1953) 447
21. Dempster W.J., Calnan J.S., Kulatilake A.E.:
Time of Antigen Release from Homografts.
Brit. Med. J., 1 (1963)
22. Dempster W.J., Williams M.A.:
Cellular Infiltration in Homotransplanted Kidneys.
Brit. Med. J., 1 (1963)

23. Dosch H.-M., Gelfand E.W.:
In vitro Induction and Measurement of Hemolytic
Plaque Forming Cells in Man.
J. Immunol. Methods, 11 (1976) 107–116
24. Fawcett J.K., Scott J.E.:
J. Clin. Path. 13 (1960) 156
25. Ferrer J.F., Mihich E.:
Effect of Splenectomy on the Regression of Transplantable Tumors.
Cancer Research 28, (1968) 1116–1120
26. Fisher B.L.:
Observations Concerning Spleen Homotransplantation in Normal and
Irradiated Animals.
Surg. Gyn. Obstet. 112 (1961) 455
27. Forth W., Henschler D., Rummel W.:
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
B.I. Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich (1975)
28. Gershon R.K., Kondo K.:
Cell Interactions in the Induction of Tolerance:
The Role of Thymic Lymphocytes.
Immunol. 18 (1970) 723
29. Gershon R.K., Cohen P., Hencin R., Liebhaver S.A.:
Suppressor T Cells.
J. Immunol. Vol. 108, No. 3 (1972) 586
31. Gershon R.K., Gery I., Waksman B.H.:
Suppressive Effects of in vivo Immunisation on PHA Responses in vitro.
J. Immunol. Vol. 112, No. 1 (1974) 215
32. Gershon R.K., Lance E.M., Kondo K.:
Immuno-Regulatory Role of Spleen Localizing Thymocytes.
J. Immunol. Vol. 112, No. 2 (1974) 546
33. Gershon R.K., Liebhaver S., Ryu S.:
T-Cell Regulation of T-Cell Responses to Antigen
Immunol. 26 (1974) 909
34. Gershon R.K.:
A Disquisition on Suppressor T Cells.
Transplant. Rev. Vol. 26 (1975) 170
35. Groth C.G., Hathaway W.E. et al.:
Correction of coagulation in the hemophilic dog by transplantation of
lymphatic tissue.
Surgery, Vol. 75, No. 5 (1974) 725–733
- 35a. Hammer C., Chaussy Ch., Brendel W.:
Preformed natural antibodies in animals and man, outlook on xenotrans-
plantation. Eur. Surg. Res. 5 (1973c), 162

36. Heberer G., Köle W., Tscherne H.:
Chirurgie
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1977)
37. Horowitz R.E., Burrows L., Paronetto F., Dreiling D., Kark A.E.:
Immunologic Observations on Homografts.
II. The Canine Kidney.
Transplantation, 3 (1965) 318
38. Jerne N.K., Henry C., Nordin A.A., Fuji H.:
Koros A.M.C., Lefkowitz I.:
Plaque Forming Cells. Methodology and Theory.
Transpl. Rev. 18 (1974) 130–191
39. Jerne N.K., Henry C., Nordin A.A., Fuji H.,
Koros A.M.C., Lefkovits I.:
Plaque Techniques for Recognizing Individual Antibody-Forming Cells;
in Williams and Chase, Methods in Immunology and Immunochemistry,
Vol. V,
Academic Press, New York (1976) 335–370
40. Jokipii A.M.M.:
Antibody Forming Cells in the Thymus of Guinea Pigs after Intrathymic
Injection of Sheep Erythrocytes.
Annales Medicinæ Experimentalis et Biologiæ Fenniae 49 (1971)
41. Köhler H.:
Regulation of Immune Responses by Anti-receptor Antibody.
Annals of Clinical and Laboratory Science, Vol. 8, No. 4 (1978)
42. Kolb E.:
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, Teil II.
Verlag Gustav Fischer, Stuttgart (1974) 598
43. Kountz S.L., Cohn R.:
Prolonged Survival of a Renal Homograft by Simultaneous
Splenectomy and Splenic Homotransplantation.
Surg. Forum 13 (1962) 59
44. Kraft H.:
Labormethoden der Veterinärmedizin bei Haussäugetieren.
Leik-Druck GmbH Kelheim (1964)
45. Lillehey R.C., Longerbean J.K., Hilal S., Yunis E.:
Studies on the Treatment of Acute Radiation Sickness in Dogs with
Various Preparations of Spleen.
Surgery 48 (1960) 716
46. Mahajan D.R., Crampton R. et al.:
Canine Spleen Transplantation.
J. Surg. Res. Vol. V, No. 9, (1965) 413

47. Mancini G., Carbonara A.O., Heremans J.F.:
Immunochemistry 2 (1965) 235
48. Montague A.C.W., Greenberg J.B., Dammin G.J., Moore F.D.:
The Effect of Nitrogen Mustard in Altering the Histocompatibility
Rejection Sequence in Splenic Homotransplantation in the Dog.
J. Surg. Res. Vol. II, No. 2 (1962) 130
49. Najarian J.S., Fokker J.E.:
Interpretations of Transplanted Kidney Morphology.
Transpl. Proc. 1 (1969) 1022
50. Nickel R., Schummer A., Seiferle E.:
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Bd. III
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg (1976) 290
51. Norman J.C., Covelli V.H., Sise H.S.:
Transplantation of the Spleen:
Experimental Cure of hemophilia
Surgery Vol. 64, No. 1 (1968) 1–16
52. Opelz G., Terasaki P.I.:
Effect of Splenectomy on Human Renal Transplants.
Transplantation Vol. 15, No. 6 (1973)
53. Qudin J., Michel M.:
Idiotypy of Rabbit Antibodies.
J. Exp. Med. 130 (1969) 595
54. Pabst., Maurer., et al.:
Postoperative Thromboembolieprophylaxe.
Verlag Schattauer, Stuttgart, New York, 1. Auflage (1977)
55. Pichlmayr R.:
Herstellung und Wirkung heterologer Antihundelymphozytenserum.
Z. f. d. ges. exp. Med. 143 (1967) 161
56. Pielsticker K.:
Habilitationsschrift.
München (1974)
57. Popper H. et al.:
Biochem. Z. 291
(1937) 354
58. Porter K.A.:
The Effects of Antibodies on Human Renal Allografts.
Transpl. Proc. 8 (1976) 189
59. Rodkey L.S.;
Studies of Idiotypic Antibodies
J. Exp. Med. Vol. 139, (1974) 712

60. Sampson D., Rankel R.J., LaPorta A.J., Metzger J.:
Suppressor Cells in Man, Dog and Transplantation.
J. Surg. Res. 22 (1977) 385–391
61. Seelig H.P., Wüst H.:
Ärztl. Lab. 15 (1969) 34
62. Seldin D.W., Carter N.W., Rector F.C.:
Diseases of the Kidney. (Ed. Strauss M.B. Welt L.B.) Boston (1971)
63. Sennekamp J., Savic B., Schulz D., Ricken D.:
Enzymatische und morphologische Befunde bei Transplantationen
von Milzen an Hunden.
Kongress für innere Medizin (1978) 1585
64. Simonsen M., Buemann J., Gammeltoft A., Jensen F., Jorgensen K.:
Biologic Incompatibility in Kidney Transplantation
in Dogs, Experimental and Morphologic Investigation.
Acta Pathol. Mikrobiol. Scand., 32 (1953) 36
65. Terasaki P.I., McClelland J.D.:
Mikrodroplet assay of human serum cytotoxins.
Nature 219 (1964) 998
66. Trapnell, Rigly et al.:
A Controlled Trial of Trasylol in the Treatment of Acute
Pankreatitis.
Brit. J. Surg. 61 (1974)
67. van Wyck D.B., Witte M.H., Witte C.L., Strunc R.C.:
Immunological Effects of Partial and Total Splenectomy.
Immuno-aspects of the Spleen, Battisto and Streilein eds.
North-Holland Biomedical Press, Amsterdam. (1976) 239
68. Vorlaender K.-O.:
Praxis der Immunologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1976)
69. Westbroek D.L., Vriesendorp H.M., Van den Tweel J.G.,
Influence of SD and LD Matching of Kidney Allograft
Survival in Unrelated Mongrel Dogs.
Transpl. Proc. 7 (1975) 427
70. Westhues M., Fritsch R.:
Die Narkose der Tiere, Bd. II, Allgemeinnarkose.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg (1961) 294
71. Wheeler H.B., Balankura O. et al.:
The Homograft Response to Whole Organ Transplantation
of the Canine Spleen.
J. Surg. Res. Vol. II, No. 2 (1962) 114

72. Wigzell H., Binz H., Andersson L.:

Induction of Specific Unresponsiveness to Transplantation Antigens.
Scand. J. Urol. Nephrol. Suppl. 42 (1977) 12 -17

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Institut für Chirurgische Forschung und für seine ständigen Anregungen und Ratschläge im Verlauf der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H. Buschmann danke ich für die Überlassung der Arbeit sowie für die Betreuung seitens des Fachbereichs Tiermedizin.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer und Herrn Prof. Dr. med. W. Land für die Einführung in die immunologischen und chirurgischen Grundlagen der Transplantation und für die Unterstützung bei den Tierversuchen.

Herrn Dr. med. S. Scholz danke ich für die Bestimmung der DLA-Antigene, Herrn Dr. Permanetter für die Durchführung der Histopathologischen Untersuchungen.

Für die technische Unterstützung und stetige Hilfsbereitschaft danke ich Fräulein M. Kübelbäck, Fräulein H. Lütjens, Fräulein A. Allmeling, Fräulein G. Höbel, Fräulein H. Bayer sowie allen Tierpflegern des Tierstalles.

Lebenslauf

Am 11. März 1951 wurde ich, Edmund Peter Weiß, als Sohn des Ingenieurs Edmund Weiß und seiner Ehefrau Dorothea Weiß, geb. Scherer in München geboren.

Von 1957 bis 1961 besuchte ich die Volksschule an der Grandlstraße in München. Von hier wechselte ich 1961 auf das Max-Planck-Gymnasium in München-Pasing über, wo ich meine schulische Ausbildung 1970 mit dem Abitur abschloß.

Vom 4.10.1971 bis zum 31.1.1973 leistete ich Zivildienst als Sanitäter im Unfall-Rettungsdienst und Krankentransport bei der Johanniter-Unfall-Hilfe in München.

1973 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Universität München. Im November 1978 schloß ich das Studium in München mit dem Staatsexamen (Gesamtergebnis: gut) ab.

Im Januar 1979 begann ich als Promotionsstudent mit der wissenschaftlichen Tätigkeit am Institut für Chirurgische Forschung am Fachbereich Medizin der Universität München. Ich beende dieses Promotionsstudium mit der Einreichung meiner Dissertation.

